FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1947

THESE

N° 245

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

François JACOB

Né le 17 Juin 1920, à Nancy (Meurthe-et-Moselle.)

Présentée et soutenue publiquement le ..... 28 AVR 1947 19..

ETUDE EXPERIMENTALE ET CLINIQUE SUR LA TYROTHRICINE

Président M. MOREAU, Professeur.

PARIS
IMPRIMERIE R. FOULON
29, RUE DEPARCIEUX, 29
1947

BIBLIOTECA

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : **JACOB.**

Prénom : **François.**

Date de Soutenance :

Numéro d'ordre :

(Ces deux mentions seront complétées par le Service de la Bibliothèque.)

JACOB (François). — Etude expérimentale et clinique sur la Tyrothricine. — Paris, Imp. R. Foulon, 1947, *in*-8°, 172 *p.*, 5 *fig.*

(*Thèse Médec.* (*Et.*), *Paris* 1947, *N°* .....).

JACOB (François). — Etude expérimentale et clinique sur la Tyrothricine. — Paris, Imp. R. Foulon, 1947, *in*-8°, 172 *p.*, 5 *fig.*

(*Thèse Médec.* (*Et.*), *Paris* 1947, *N°* .....).

JACOB (François). — Etude expérimentale et clinique sur la Tyrothricine. — Paris, Imp. R. Foulon, 1947, *in*-8°, 172 *p.*, 5 *fig.*

(*Thèse Médec.* (*Et.*), *Paris* 1947, *N°* .....).

JACOB (François). — Etude expérimentale et clinique sur la Tyrothricine. — Paris, Imp. R. Foulon, 1947, *in*-8°, 172 *p.*, 5 *fig.*

(*Thèse Médec.* (*Et.*), *Paris* 1947, *N°* .....).

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1947 **THESE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

François JACOB

Né le 17 Juin 1920, à Nancy (Meurthe-et-Moselle.)

Présentée et soutenue publiquement le ..... 19..

ETUDE EXPERIMENTALE ET CLINIQUE SUR LA TYROTHRICINE

Président M. MOREAU, Professeur.

PARIS
IMPRIMERIE R. FOULON
29, RUE DEPARCIEUX, 29
1947

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

DOYENS HONORAIRES :

MM. Balthazard, Roussy, Baudouin.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Aubertin, Balthazard, Bassет, Bezançon, Brindeau, Carnot, Chevassu, Chiray, Clerc, A. Couvelaire, Delbet, Hartmann, Heitz-Boyer, Jeannin, Laignel-Lavastine, Laubry, Lemierre, Lenormant, Marion, Mulon, Ombrédanne, Roussy, Rouvière, Sannié, Sébileau, Sézary, Tanon.

DOYEN ..... BINET

ASSESSEUR ..... VERNE

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	N...
Anatomie pathologique	LEROUX.
Assistance Médico-sociale	N...
Bactériologie	GASTINEL.
Biologie médicale	VERNE.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Clinique de cardiologie	DONZELOT.
Cliniques chirurgicales	BROCQ. CADENAT. MONDOR. QUENU.
Clinique chirurgicale infantile et d'orthopédie	LEVEUF.
Clinique chirurgicale orthopédique	MATHIEU.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.).
Clinique des maladies infectieuses	N...
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Cliniques médicales	BENARD (H.). CHABROL. HARVIER. LIAN.
Clinique médicale propédeutique	P. VALLERY-RADOT.
Clinique de Neuro-chirurgie	VINCENT (Cl.).
Cliniques obstétricales	LANTUEJOUL. LEVY-SOLAL. PORTES.
Clinique ophtalmologique	VELTER.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE.
Clinique thérapeutique médicale	LOEPER.
Clinique de la Tuberculose	BERNARD (Et.).
Clinique urologique	FEY.
Embryologie	GIROUD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	ALAJOUANINE.
Histologie	CHAMPY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	JUSTIN-BESANÇON(L.)
Hygiène et clinique de la première enfance	CATHALA.
Hygiène et médecine préventive	JOANNON.
Médecine du Travail	N...
Médecine légale	DUVOIR.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT (E.).
Pathologie chirurgicale	PETIT-DUTAILLIS.

	MM.
Pathologie exotique	LAVIER.
Pathologie expérimentale et comparée	N...
Pathologie médicale	MOREAU.
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD.
Physiologie	BINET (Léon).
Physique médicale	RICHET (Charles).
Problèmes alimentaires (*chaire à titre personnel*)	LELONG.
Puériculture	DESGREZ (H.).
Radiologie médicale	DECHAUME.
Stomatologie	STROHL.
Technique chirurgicale	MOULONGUET.
Thérapeutique	LAROCHE (G.).

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. DOGNON (*Physique médicale*), GAILLARD (*Parasitologie*), HALPHEN (*O. R. L.*), JAYLE M. (*Chimie médicale*), Mlle J. LEVY (*Pharmacologie*), OLIVIER (*Anatomie*), PIEDELIEVRE (*Médecine légale*).

II. — AGREGES EN EXERCICE

	MM.
Anatomie	CORDIER.
	DELMAS.
Anatomie pathologique	DELARUE.
	Mlle GAUTHIER-VILLARS.
Bactériologie.	BONNET.
	FASQUELLE.
Chimie médicale	ETTORI.
	N...
Chirurgie générale	AMELINE.
	FEVRE.
	FUNCK-BRENTANO.
	MENEGAUX.
	PATEL.
	SICARD.
	MERLE D'AUBIGNE.
	ROUX.
	PADOVANI.
	LEGER.
	HUGUIER.
	RUDLER.
Histologie	BULLIARD.
Hydrologie	DEBRAY.
Hygiène	BOYER.
	DEPARIS.
Maladies mentales	BARUK.
	DE SEZE.
Médecine générale	BARIETY.
	BOULIN.
	BROUET.
	CACHERA.
	COSTE.
	KOURILSKY.
	MAURIC.

	MM.
Médecine générale	DECOURT.
	LAMY.
	HAMBURGER.
	DREYFUS (G.).
	FAUVERT.
	GARCIN.
	DE GENNES.
	HAGUENAU.
	LENEGRE.
	MARCHAL.
	MOLLARET.
	MOUQUIN.
	SOULIE.
Médecine légale	DESOILLE.
Obstétrique	DIGONNET.
	LACOMME.
	SUREAU.
	VARANGOT.
Ophtalmologie	RENARD.
Oto-rhino-laryngologie	AUBIN.
Parasitologie	BRUMPT (L.).
Parasitologie coloniale	N...
Pathologie expérimentale.	LEMAIRE.
Pharmacologie	CHEYMOL.
	N...
Physiologie	BARGETON.
	PARROT.
Physique médicale	N...
Thérapeutique	TURPIN.
Urologie	COUVELAIRE.

III. — PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM. BASSET (*Chirurgie générale*), HUGUENIN (*Anatomie pathologique*).
LE LORIER (*Obstétrique*), VAUDESCAL (*Obstétrique*).

IV. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

	MM.
Clinique chirurgicale	GATELLIER. DE GAUDART D'ALLAINES.
Clinique obstétricale	ECALLE.
Clinique O.R.L.	HALPHEN.

	M.
Clinique médicale	CHEVALLIER

V. — CHARGES DE COURS

	M.
Radiologie	LEDOUX-LEBARD.

	MM.
Secrétaire de la Faculté	J. MOREL.
Secrétaire-adjoint	M. BRISSIAUD.

Bibliothécaire en Chef ..	Dr A. HAHN.
Bibliothécaires	Mlles DUMAITRE, GOICHON, LAURENT.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinons émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ***aucune approbation ni improbation.***

A LA MEMOIRE DE MES DEUX AMIS
VINCENT DANIS ET ROGER DREYFUS

Morts pour la France au cours de la bataille d'Afrique.

INTRODUCTION

Au moment où l'emploi des antibiotiques connaît un développement retentissant, nous avons essayé d'étudier un de ces produits qui, après la pénicilline, a suscité un gros intérêt aux Etats-Unis et en U. R. S. S.,

Nous tenons d'abord à remercier Monsieur le Professeur R. MOREAU qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse.

Nous avons pu réaliser cette étude grâce à la bienveillance des dirigeants du Centre Militaire d'Etude et de Fabrication de la Pénicilline, et, en particulier, du Médecin-Commandant BROCH qui mit à notre disposition les laboratoires, le personnel et la documentation nécessaires à ce travail.

Nous remercions également Monsieur le Docteur REILLY, Directeur du Laboratoire de l'Hôpital Claude Bernard, qui a bien voulu nous guider pour l'expérimentation sur l'animal ainsi que pour les débuts thérapeutiques.

Nous remercions enfin Messieurs les Professeurs LEMAITRE et MOCQUOT,

Monsieur le Professeur Agrégé SICARD,

Madame le Docteur BERTRAND-FONTAINE, Messieurs les Docteurs HARTMAN, HUBER, MADURO, TZANCK, LAPLANE et HERVET qui ont bien voulu expérimenter, du point de vue thérapeutique, notre produit dans leurs services.

Le Médecin-Commandant BROCH ayant eu l'extrême obligeance de mettre à notre disposition deux souches de « Bacillus

Brevis » provenant d'Amérique, nous nous sommes d'abord efforcés de cultiver ce bacille, d'extraire le produit actif des milieux de culture et de mettre au point ces cultures.

Dans un deuxième temps, nous avons recherché les différentes propriétés du produit isolé, aux points de vue physique, chimique et biologique « in vitro » et « in vivo ».

Enfin dans un troisième temps, nous avons commencé l'expérimentation clinique du produit et nous nous sommes efforcés d'en approvisionner, dans la mesure de notre petite production de laboratoire, les différents services hospitaliers auxquels nous avions demandé de bien vouloir l'essayer.

Dans cette étude, nous examinerons donc :

— d'abord rapidement l'histoire de cet antibiotique qui, contrairement à la pénicilline découverte par une observation de FLEMING d'un phénomène accidentel, est l'aboutissement logique des travaux de nombreux chercheurs et en particulier de DUBOS;

— puis les caractéristiques du germe, les moyens de culture et la formation du principe actif;

— puis les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du produit ainsi que le dosage;

— enfin l'apport thérapeutique de ce produit et ses modes d'utilisation dans les différents domaines cliniques.

HISTORIQUE

Il y a très longtemps que fut reconnu à certains germes sporulants, le pouvoir de secréter une substance bactéricide. En 1907, NICOLLE constata que le Bacillus Subtilis était capable de provoquer la lyse de pneumocoques. Plus tard, DUCLAUX retrouva cette même propriété chez Tyrothrix distortus, Tyrothrix geniculatus; de même pour les cultures de Bacillus mesentericus.

Mais c'est DUBOS qui, en 1939, sut extraire un produit bactéricide d'une culture d'un germe sporulant du sol (1) auquel il donna le nom de « Bacillus Brevis ».

Pour extraire ce produit actif, DUBOS procéda de la façon suivante :

Il cultiva le bacille sur bouillon peptoné à 1 % à 37°. Après quatre jours d'étuve, la culture entière fut acidifiée à l'acide chlorhydrique concentré et amenée à pH 4,5. Cette opération provoqua la formation d'un précipité épais composé des corps microbiens et de la substance active. Le précipité fut recueilli par filtration et le liquide clair écarté. Le précipité solide fut repris par l'acétone, filtré et la solution acétonique quelque peu concentrée par distillation. Le résidu de distillation fut versé dans de l'eau contenant quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Il se forma un précipité assez épais que DUBOS recueillit sur filtre Büchner et qu'il dessécha sous vide avec $P^2 O^5$.

Puis en perfectionnant ce procédé d'extraction, DUBOS et CATTANÉO (3) purent obtenir un produit purifié, sans protéine et très actif vis-à-vis des micro-organismes Gram positif. A ce produit, DUBOS donna le nom de tyrothricine.

Plus tard DUBOS et HOTCHKISS (4 et 5) fractionnèrent le produit en deux composants : la gramicidine et la tyrocidine.

La tyrothricine désigne donc la substance antibiotique isolée des cultures de Bacillus Brevis. Cette tyrothricine est un mélange de gramicidine et de tyrocidine. Dans certaines études expérimentales, la tyrocidine et la gramicidine ont été employées. Mais en clinique on n'utilise pratiquement que la tyrothricine.

Tous ces produits sont des polypeptides. Ils sont stables et se présentent sous forme de poudre (tyrothricine) ou de cristaux (gramicidine, tyrocidine). Ils sont solubles dans l'alcool et l'acétone, mais pas dans l'eau, ni dans les autres solvants ordinaires. En solution alcoolique, ils supportent des températures assez élevées (voir caractères chimiques).

En été 1942, GAUSE et BRAZHNIKOVA entreprirent l'investigation systématique des différentes souches de bacilles antagonistes provenant du sol russe. Parmi plusieurs centaines de souches, une culture isolée d'un sol de jardin s'est montrée active et provoquait à de faibles concentrations la lyse de cultures de staphylocoques.

Cet organisme, qui appartient au type de Bacillus Brevis décrit par DUBOS, puis par STOKES et WOODWARDS, servit à isoler et à produire sur une vaste échelle un polypeptide bactéricide dénommé gramicidine soviétique ou gramicidine S.

Cette gramicidine S très voisine de la tyrothricine, s'en distingue néanmoins par des propriétés physiques, chimiques et bactériologiques différentes comme nous le verrons dans les divers chapitres.

PREMIERE PARTIE

LE BACILLE ET SA CULTURE
LA FORMATION DES PRINCIPES ACTIFS

LE BACILLE

La découverte par DUBOS du Bacillus Brevis est la suite de nombreux travaux entrepris sur l'antagonisme existant entre différentes sortes de bactéries.

L'existence de micro-organismes nocifs pour certains de leurs congénères, notamment pour les espèces pathogènes, de même que la production par des microbes de substances antibiotiques plus ou moins spécifiques, sont choses connues depuis longtemps. Si la plupart de ces découvertes sont des faits isolés dûs souvent à des observations de hasard, d'autres au contraire résultent d'efforts continus et systématiquement dirigés dans ce but.

L'origine des recherches relatives à l'antagonisme microbien se trouve déjà dans l'œuvre de PASTEUR : dans son mémoire de 1877, PASTEUR signale déjà avec JOUBERT l'action antagoniste immédiate exercée *in vivo* comme *in vitro* par diverses bactéries saprophytes sur la bactéridie du charbon.

Puis pendant longtemps furent observés des cas d'antagonisme médiat (B. bulgaricus, B. acidophilus, etc...) et d'antagonisme immédiat (dont la principale fut la pyocyanase).

Plus tard SCHILLER, puis GRATIA, arrivèrent dans des conditions particulières à provoquer un antagonisme entre deux germes qui normalement ne sont pas antagonistes et s'accommodent l'un de l'autre; c'est ainsi que SCHILLER obtint la lyse des streptocoques par B. mesentericus. SCHILLER arriva à ce qu'il a appelé l'antagonisme provoqué en l'opposant à l'antagonisme naturel. D'après lui, tout germe protéolytique est capable de digérer d'autres microbes, à condition que les deux organismes

soient ensemencés simultanément dans un milieu solide ou liquide, dépourvu de source azotée assimilable.

A peu près à la même époque (1924) GRATIA put montrer que les cadavres microbiens peuvent servir d'unique aliment à certains microbes; par conséquent un milieu de culture ne contenant pas d'autres éléments nutritifs permettra la croissance des micro-organismes capables de digérer ces cadavres, et de ceux-là seulement.

Les travaux de DUBOS ont tracé une nouvelle voie dans l'étude de l'antagonisme provoqué.

En 1939, DUBOS, se basant sur le fait que les matières organiques ajoutées au sol entrent en décomposition par l'intermédiaire de micro-organismes, eut l'idée d'ajouter à des échantillons de sol des cultures vivantes de cocci Gram + dans le but de développer la flore microbienne capable d'attaquer les cellules vivantes de ces mêmes cocci.

Il procéda de la façon suivante :

Il mélangea des échantillons de sol (de réaction neutre) avec des phosphates alcalins, du sulfate d'ammonium et un excès de carbonate de calcium. Il mit le tout à l'étuve à 30° pendant quelques semaines pour favoriser la décomposition de la plupart des matières organiques par les germes du sol.

Il cultiva sur milieux liquides des staphylocoques, des pneumocoques et des streptocoques hémolytiques. Puis il centrifugea les cultures, remit en suspension dans de petites quantités d'eau distillée les cellules microbiennes et ajouta aux échantillons de terre ces suspensions. Pendant deux ans, il répéta ce processus à des intervalles de temps irréguliers, puis il préleva 2 gr. de son échantillon qu'il ajouta à 10 centimètres cubes d'un milieu minéral liquide où avaient été placées les cellules vivantes provenant de 150 centimètres cubes de cultures de staphylocoques. Cette suspension contenant la terre et les staphylocoques fut mise à l'étuve à 30° C. dans un récipient plat. Après 48 heures d'incubation, DUBOS constata le début de la lyse des staphylocoques et la présence d'une flore bactérienne variée. Une petite quantité de cette suspension fut repiquée sur un

milieu similaire et replacée à l'étuve dans les mêmes conditions. A nouveau, il observa la lyse des staphylocoques au bout de 48 heures.

Grâce à de nouveaux repiquages suivis d'étalements sur milieux solides, il fut finalement possible en culture pure d'obtenir un bacille capable de lyser le staphylocoque en suspension dans des milieux de culture.

Ce bacille, auquel fut donné le nom de Bacillus Brevis, est mobile et possède des spores terminales. Il mesure 4 à 5 μ de long sur 0 μ 5 de large environ. Dans les cultures très jeunes, le Bacille de DUBOS prend le Gram, mais très rapidement il perd cette caractéristique et se présente au microscope sous forme d'un bâtonnet Gram —. DUBOS attribue ce phénomène au fait que les cultures s'autolysent très rapidement donnant des silhouettes de bacilles à granulations Gram —.

Sur les étalements, au microscope, il apparait généralement isolé, quelquefois rangé par 4 ou 5 en petites palissades.

Dans les cultures vieilles de deux ou trois jours, apparaissent de nombreuses spores assez grosses, de la forme d'un ballon de rugby, à centre clair et cernées d'un trait foncé (1).

En 1942, STOKES et WOODWARDS (66) reprirent la question d'une façon plus générale et étudièrent toute une série de germes extraits du sol et produisant des substances bactéricides (antagonistes).

Ils procédèrent de la façon suivante :

1°) *Méthode d'isolement des antagonistes.*

La méthode d'isolement consiste à étaler des échantillons de terre à petites dilutions (1/10.000 ou moins) sur milieu adéquat (agar à la cervelle) de façon à obtenir un grand nombre de colonies sur chaque étalement. Le développement des colonies permet aux antagonismes qui peuvent exister entre les dif-

---

(1) En 1940, WAKSMAN et WOODRUF isolèrent des organismes du même genre en étalant de la terre sur milieu d'agar lavé contenant des suspensions de diverses bactéries.

férents organismes, de se manifester sous forme de zones claires autour des antagonistes actifs.

Après mise à l'étuve à 28° des étalements pendant deux à cinq jours, des colonies distinctes apparaissent sous forme de zones à diamètres variables. Le type d'antagoniste dépend du milieu de culture et de certains facteurs physiques ou chimiques. STOKES et WOODWARDS ont ainsi décrit 24 souches de bacilles sporulants extraits du sol.

2°) *Caractéristiques des souches isolées.*

Les souches ont été purifiées par étalement et leur activité antibactérienne étudiée par de nombreux procédés vis-à-vis des bactéries Gram positif et Gram négatif (Streptocoque pyogène, Staphylocoque doré, Bacille subtilis, Escherichia coli, Eberthella typhosa).

On peut pour cela placer côte-à-côte en milieu solide les souches isolées et les organismes témoins.

On peut également verser de l'agar fondu, préalablement ensemencé avec l'organisme témoin, dans des boites de Pétri stériles et, après solidification, rayer la surface de l'agar avec une anse de platine portant les germes à étudier.

Mais la meilleure technique consiste à ajouter de petites quantités (0,1 à 1,0 cm^3) de culture sur bouillon de l'organisme témoin au liquide obtenu par filtration des cultures d'antagoniste sur bouillon. Après quelques heures d'étuve à 37°, on repique sur milieu solide et on étudie ainsi les effets bactéricides.

Sur les 24 souches ainsi étudiées par STOKES et WOODWARDS, 7 se sont trouvées avoir un effet bactéricide et bactériolytique vis-à-vis du staphylocoque doré, du Bacillus subtilis. Elles ont, par contre, un effet nul vis-à-vis de l'Escherichia coli et de l'Eberthella typhosa. Les autres souches n'ont aucun effet sur aucun des organismes témoins (Tableau 3, page 42).

Les cultures des différentes souches montrent des différences assez notables entre les souches actives et les souches inactives.

C'est ainsi qu'en cultures de 24 heures sur bouillon, les souches actives sont Gram négatif alors que les souches inactives

sont Gram positif. Les souches inactives ont une grande tendance à donner une réaction acide avec les sucres. Les souches actives forment H^2S sur milieu peptoné, contrairement aux souches inactives. Pratiquement toutes les souches réduisent les nitrates et liquéfient la gélatine. Les souches inactives hydrolysent l'amidon et les souches actives ne l'hydrolysent pas.

Le tableau suivant donne le détail de ces opérations.

Il reproduit les résultats trouvés avec les sept souches actives et avec trois des souches inactives prises au hasard (A^{15} A^{31} A^{32}) :

I. — SOUCHES ACTIVES

Souche	Glucose	Lactose	Saccharose	Indol	H_2S	Réduction des nitrates	Liquéfaction de la gélatine	Hydrolyse de l'amidon	Gram de la souche
A3	Alc.	Alc.	Alc.	—	+	+	+	—	—
A5	Alc.	Alc.	Alc.	—	+	+	+	—	—
A10	Alc.	Alc.	Alc.	—	+	+	+	—	—
A24	Alc.	Alc.	Alc.	-	+	+	+	—	—
A23	Alc.	Alc.	Alc.	-	+	+	+	—	—
A27	Alc.	Alc.	A	+	+	+	+	—	—
A34	Alc.	Alc.	Alc.	—	+	+	+	—	—

II. — SOUCHES INACTIVES

Souche	Glucose	Lactose	Saccharose	Indol	H_2S	Réduction des nitrates	Liquéfaction de la gélatine	Hydrolyse de l'amidon	Gram de la souche
A15	Alc.	Alc.	A	—	—	+	+	+	+
A31	Alc.	A	A	—	—	+	—	+	+
A32	A	A	A	—	—	+	+	+	+

TABLEAU I

Par ailleurs, la méthode d'extraction de tyrothricine mise au point par DUBOS a été essayée pour ces différentes souches : lorsqu'on ajoute l'extrait alcoolique à une solution à 1 % d'électrolyte il se produit un précipité blanc comparable à celui de DUBOS pour les souches actives, alors qu'il ne se produit aucun précipité pour les souches inactives.

D'autre part, la souche russe de GAUSE et BRAZHNIKOVA présente en gros les mêmes caractéristiques que les souches actives américaines : elle alcalinise le bouillon sucré, produit H^2S en bouillon peptoné, Gram négatif. Par contre, alors que la température optima pour les souches américaines est de 35°-37°C. elle atteint 41°-43° C. pour la souche russe qui pousse jusqu'à 60° C.

CULTURE DU BACILLUS BREVIS

PRODUCTION DE TYROTHRICINE DANS LES CULTURES

Nous avons étudié les variations de cultures de Bacillus Brevis et de production de tyrothricine. Pour cette dernière étude nous avons utilisé soit la méthode complète d'extraction (DUBOS) effectuée sur un prélèvement quantitatif, soit certaines méthodes plus rapides mais moins précises (dosage hémolytique ou dosage selon l'activité antibactérienne) qui seront exposées en détail au chapitre « dosage ».

Nous étudierons ici les variations des cultures et de la production de tyrothricine suivant un certain nombre de facteurs :

Genre de culture (surface-profondeur), milieux (besoins nutritifs), pH, température, durée, souches.

1°) *Genre de culture.*

Les Américains ont tout d'abord employé la culture en surface. Au centre Cabanel nous avons surtout expérimenté la culture en surface, en bouteilles de Roux.

Il semble qu'il y ait une épaisseur optima de liquide qui se situe entre 1 et 2 cm. Cette épaisseur représenterait un compromis entre la production la plus rapide et les besoins nutritifs des bacilles.

C'est dans ces limites, et en se plaçant dans les conditions optima pour les autres facteurs, que nous avons obtenu nos meilleurs rendements : de 500 à 900 mg. par litre de milieu de culture.

Les Américains (STOKES et WOODWARDS) sont arrivés à utiliser des cultures submergées dans certaines conditions assez précises de milieu, d'aération, de pression et d'agitation.

Mais d'une façon générale le rendement est très inférieur, ne dépassant pas 300 mg. par litre de milieu.

2°) *Milieu — Besoins nutritifs.*

Nous avons expérimenté un certain nombre de milieux de culture en nous plaçant pour chaque expérimentation dans des conditions analogues de façon à éliminer les autres facteurs pouvant influencer la production de tyrothricine.

Nous avons ainsi expérimenté les milieux suivants :

Milieu 1 Eau peptonée à 1 %.
Milieu 2 Eau peptonée à 1 % + glucose 1 %.
Milieu 3 Eau peptonée à 1 % + glucose 1 % + sels minéraux.
Milieu 4 Bouillon de viande.
Milieu 5 Bouillon de viande + peptone 1 %.
Milieu 6 Bouillon de viande + peptone 1 % + glucose 1 %.
Milieu 7 Autolysat de levure.
Milieu 8 Autolysat de levure + peptone 1 %.
Milieu 9 Autolysat de levure + peptone 1 % + glucose 1 %.
Milieu 10 Corn steep (1).
Milieu 11 Corn steep + peptone 1 %.
Milieu 12 Corn steep + peptone 1 % + glucose 1 %.

De ces expériences, une série de conclusions peut être tirée :

— tout d'abord l'autolysat de levure convient mal au Bacillus Brevis qui ne pousse pratiquement pas sur ce milieu;

— le bouillon de viande n'est pas non plus très satisfaisant.

---

(1) Milieu à base de jus de maïs utilisé pour les cultures de pénicillium notatum.

Le bacille y pousse bien mais les taux d'antibiotique obtenus sont peu élevés :

125 mg. par litre pour le bouillon seul,

215 mg. par litre pour le bouillon glucosé peptoné;

— deux genres de milieu conviennent au Bacillus Brevis : le corn steep glucosé (425 mg. par litre),
l'eau peptonée glucosée (435 mg. par litre) ;

— mais les meilleurs résultats obtenus sont ceux où l'on ajoute à l'eau peptonée glucosée un certain nombre de sels minéraux apportant des ions Na, Ca, PO^{4}, SO^{4}, etc... Nous avons, dans ces conditions atteint jusqu'à 900 mg. de tyrothricine par litre de milieu.

Il est évident que cette étude est très incomplète et qu'une série d'expériences menées sur une grande échelle permettrait de déterminer les besoins nutritifs exacts du germe : pourcentage optimum d'azote, de glucose, et leur vitesse de consommation, valeurs des différents anions et cations minéraux.

3°) *pH.*

Le Bacillus Brevis ne pousse convenablement qu'entre pH 6,8 et pH 8,5. Les variations au-delà de ces limites, surtout du côté acidité, entraînent une nette diminution des cultures et de la production d'antibiotique, et très rapidement une inhibition complète.

La figure 1 montre les résultats que nous a donnés une série d'expériences où, à part le pH, tous les autres facteurs sont restés constants (page 24).

Il y a donc un net optimum dans la zone pH 7, pH 7,5. Par ailleurs le pH s'élève avec l'âge des cultures. Au cours de nos expériences nous avons en général constaté que les cultures ensemencées à pH 7 passent à pH 7,6 vers le quatrième jour, à pH 8,2 le sixième jour et atteignent pH 8,6 entre le dixième et le quinzième jour.

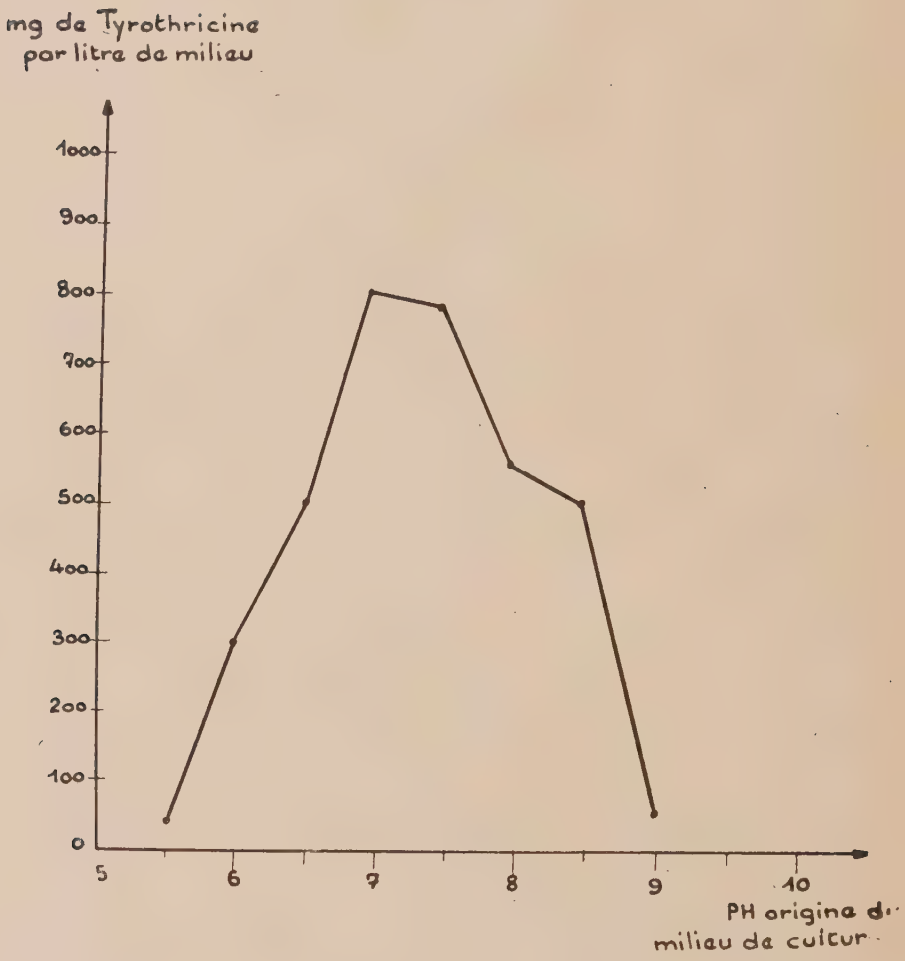

Figure 1

Variation de la production de tyrothricine dans les cultures de Bacillus Brevis en fonction du pH initial du milieu.

4°) *Température.*

La croissance et la production de tyrothricine varient en fonction de la température de l'étuve où elles sont mises. Les Américains ont ainsi expérimenté pour 7 températures d'incubation variant de 25° à 41°5. Il résulte de leurs expériences que les meilleurs résultats sont obtenus entre 35° et 40° avec un optimum à 37° (fig. 2, page 26).

Il faut noter que pour la souche russe de GAUSE l'optimum se situe aux environs de 41°.

5°) *Durée d'incubation.*

Après avoir ensemencé une série de bouteilles dans les mêmes conditions, nous les avons placées dans les mêmes conditions à l'étuve et nous avons prélevé chaque jour quelques bouteilles afin de doser la tyrothricine produite après 1, 2, 3, ...jours d'étuve. Les résultats sont donnés par la figure 3, page 28.

On constate :

a) une ascension importante jusqu'au septième jour;

b) puis une augmentation assez faible du septième au douzième jour, jour où dans notre série d'expériences, nous avons obtenu le meilleur résultat;

c) puis une baisse assez lente de la concentration.

Les Américains obtiennent, en général, des résultats du même ordre (fig. 3).

6°) *Souches.*

Nous avons utilisé la souche de DUBOS et une autre souche américaine : la souche 578. Pratiquement, et dans la limite des erreurs de nos manipulations, nous n'avons trouvé aucune différence.

Les Américains LEWIS, DIMICK et FEUSTEL ont obtenu des rendements très supérieurs aux nôtres, jusqu'à 1,5 et même 2 g. par litre avec une souche stock désignée sous le nom de WRRL stock. Avec une autre souche stock (BG) ils n'obtinrent que 0,15 à 0,5 g. par litre soit 25 à 40 % de la production de la souche WRRL stock.

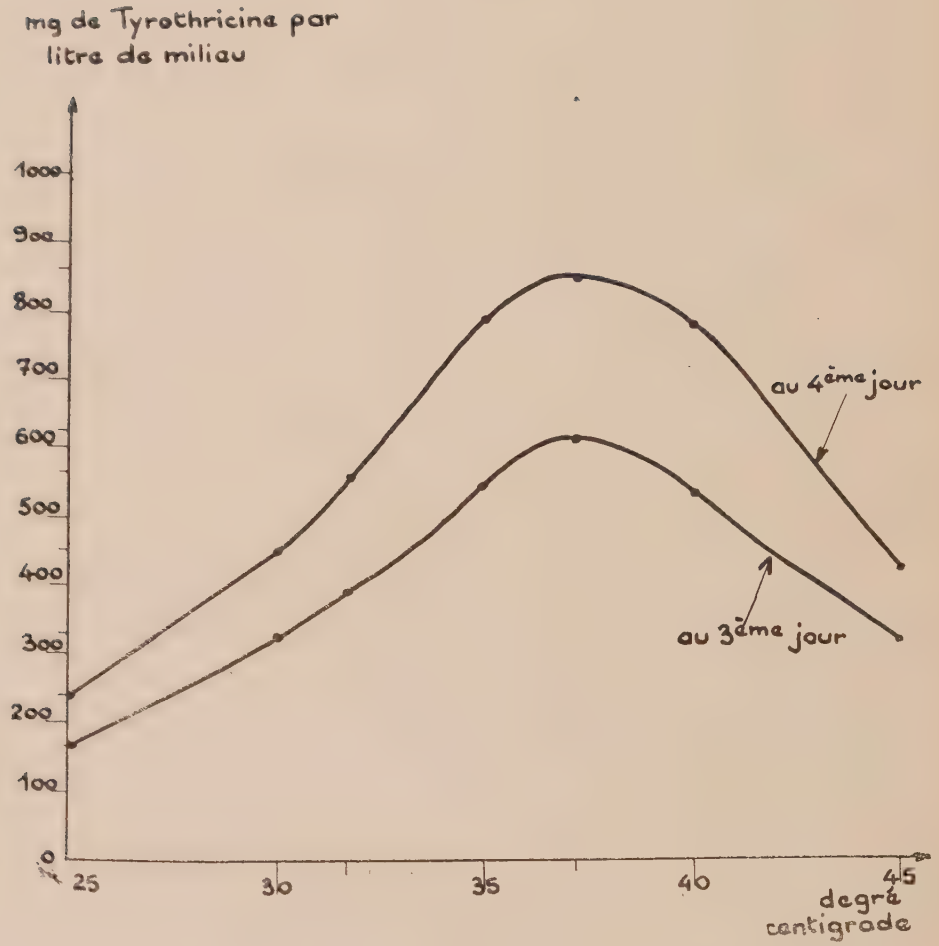

Figure 2 (Lewis et Dimick)

Variation de la production de tyrothricine dans les cultures de Bacillus Brevis en fonction de la température d'incubation des cultures

Ils se sont demandé si la souche WRRL stock, qu'ils avaient manipulée pendant fort longtemps, avait spontanément varié dans leur laboratoire.

Ils réalisèrent alors une série d'expériences échelonnées sur plusieurs mois avec deux souches : B. Brevis WRRL stock et B. Brevis X.

Pour chacune de ces deux souches furent établies six lignées indépendantes; trois sur gélose nutritive inclinée et trois sur de l'agar incliné avec 1 % de tryptone et 0,5 % de chlorure de sodium.

Après deux mois de culture (comprenant un total de sept repiquages successifs à des intervalles d'une semaine environ) 3 lignées de X (1,4 et 6) montrèrent une amélioration significative. Après encore quatre mois de culture (y compris douze nouveaux repiquages successifs) la lignée n° 6 de X était devenue équivalente aux lignées de WRRL stock. La lignée de X n° 4 qui, à deux mois avait montré une amélioration, était maintenant très mauvaise. A cette époque, la lignée de WRRL stock n° 10 donna également des résultats inférieurs.

Le renversement de cet état de chose après six mois, avec une tendance à l'amélioration de la production de tyrothricine, par les sous-cultures des souches, était sans doute provoqué par l'emploi de gélose inclinée partiellement desséchée, pour plusieurs des repiquages, pendant la dernière partie des expériences.

Les différences n'avaient aucune relation avec les milieux de cultures stock utilisés. Les auteurs n'ont pas fait de nouvelles études sur les facteurs provoquant la variabilité des cultures stock, considérant qu'ils n'avaient eu aucune difficulté à maintenir la bactérie dans son pouvoir productif élevé lorsqu'on faisait de nouveaux repiquages mensuels.

Résumé et critique.

Nous avons donc étudié un certain nombre des principaux facteurs physiques, chimiques et biologiques agissant sur la croissance du Bacillus Brevis et sur la production de tyrothricine. Nous avons ainsi utilisé les cultures en surface sur bouil-

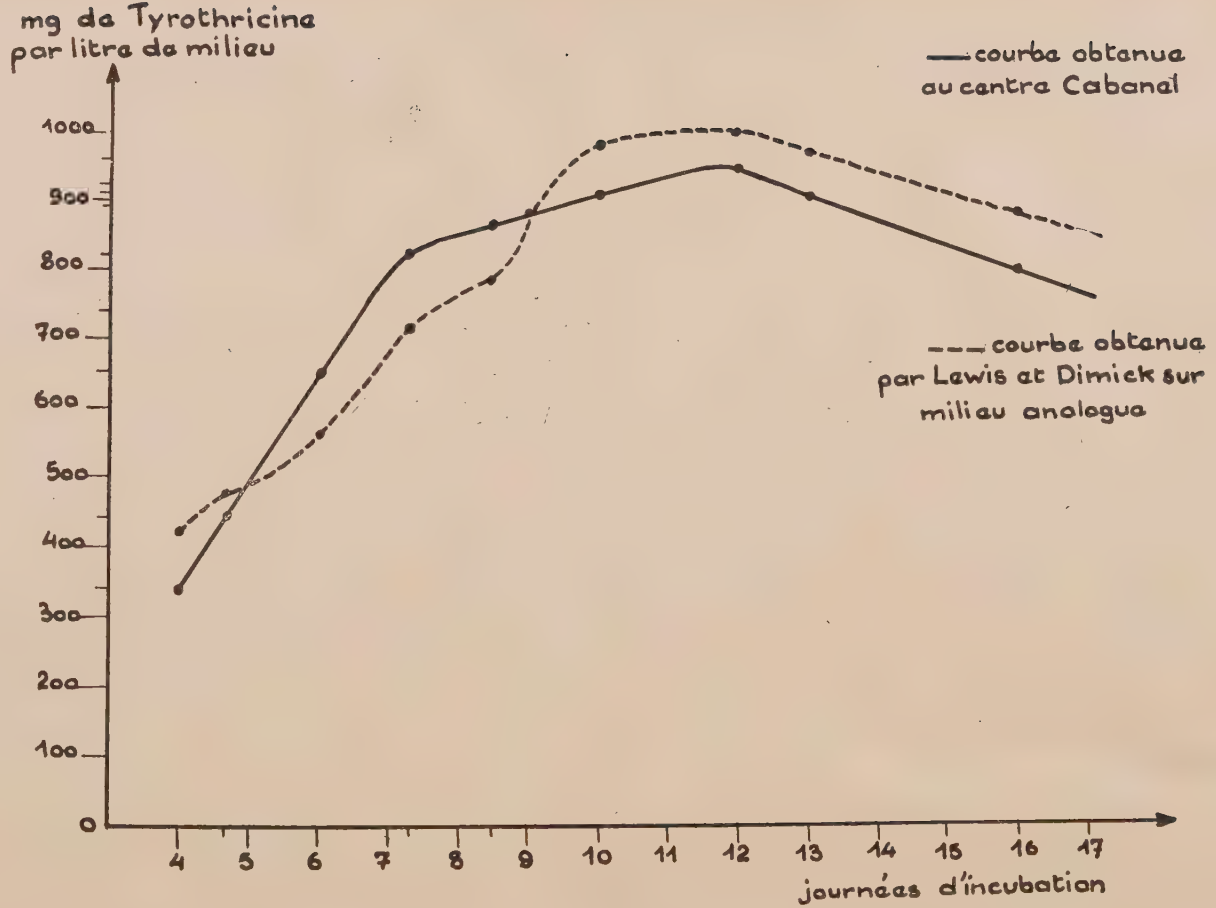

Figure 3

Variation de la production de tyrothricine dans les cultures de Bacillus Brevis avec la durée d'incubation.

lon peptoné glucosé avec des sels minéraux, à pH 7, à 37° pendant sept jours d'étuve avec la souche 578 B. B. Nous avons ainsi obtenu des rendements de tyrothricine assez satisfaisants; de l'ordre de 700 à 900 mg. par litre.

Il est bien évident que cette étude reste assez sommaire comme nous le faisions remarquer pour les besoins nutritifs. En effet, outre les besoins en azote, en glucose, en ions, il serait nécessaire de déterminer les besoins en oxygène, les variations suivant les repiquages du germe pour notre souche, les quantités optima de cultures à injecter dans chaque bouteille, l'âge optimum de ces cultures, etc...

EXTRACTION

Nous ne nous étendrons pas sur la question de l'extraction qui déborde le cadre de cette étude.

La technique employée a été celle de DUBOS, technique précédemment résumée, qui est schématisée dans le tableau suivant :

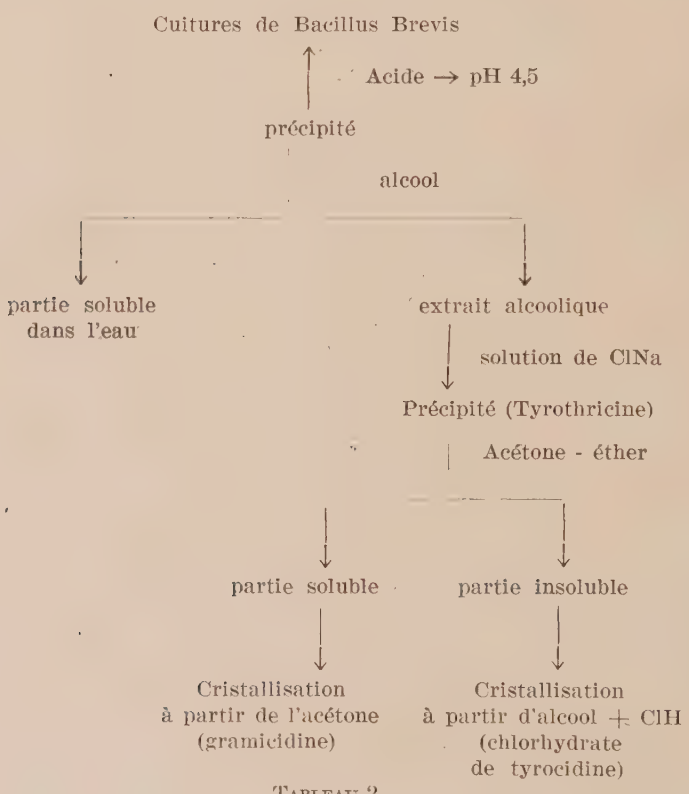

TABLEAU 2

Notons cependant que la précipitation de la solution alcoolique par de l'eau contenant en solution 1 % d'électrolyte (chlorure de sodium ou acide chlorhydrique) donne après dessiccation un produit d'une pureté relative.

La purification s'obtient en lavant plusieurs fois à l'éther sulfurique, en reprenant par l'alcool à 95°, dans lequel une petite fraction du produit reste insoluble, en reprécipitant par la solution à 1 % d'HCl et en répétant des précipitations successives à partir des solutions alcooliques ou acétoniques. Pour 15 grammes de produit après la première opération, on obtient ainsi à peu près 8 grammes à la fin de cette série de manipulations. On arrive, par de nombreuses distillations et précipitations successives, avec des variations de solvants et de pH, à obtenir un produit pur que l'on utilise en clinique.

C'est à ce stade que l'on peut dissocier la gramicidine de la tyrocidine. Dubos, en effet, a montré que la tyrothricine comprend deux composants qui se comportent de façon différente vis-à-vis de l'acétone-éther :

1°) une partie soluble dans l'acétone-éther et que l'on peut obtenir cristallisée à partir de l'acétone : c'est la gramicidine qui forme 15 à 20 % de la tyrothricine ordinaire;

2°) une partie insoluble dans l'acétone-éther et que l'on peut obtenir cristallisée à partir de l'alcool contenant quelques gouttes d'acide chlorhydrique : c'est le chlorhydrate de tyrocidine.

Nous avons surtout eu en vue l'étude de la tyrothricine qui seule est utilisée en clinique, et dans les chapitres suivants nos résultats ne concernent que la seule tyrothricine.

L'étude de la gramicidine et de la tyrocidine a été délibérément laissée de côté pour le moment, et les résultats qui seront donnés concernant ces deux corps, sont extraits de travaux américains.

DEUXIÈME PARTIE

LA TYROTHRICINE - SES PROPRIETES

ETUDE PHYSIQUE ET CHIMIQUE

1) *La tyrothricine* se présente sous la forme d'une poudre blanc grisâtre, d'autant plus blanche qu'elle est plus pure. Elle est très soluble dans l'alcool et l'acétone, insoluble dans l'eau, le chloroforme, l'éther, le benzène et le toluène.

Les solutions dans l'alcool permettent de faire des suspensions dans l'eau distillée ou l'eau glucosée, stables pendant 6 à 8 jours. Mais la présence d'une très petite quantité d'un électrolyte dans l'eau entraîne la précipitation du produit. Ce sont ces suspensions dans l'eau distillée ou dans l'eau glucosée que l'on emploie le plus volontiers en clinique.

Les solutions alcooliques sont stables à la température ordinaire pendant plusieurs mois. Chauffées à 100° pendant une heure elles conservent leurs propriétés antibiotiques. Après chauffage à 120° pendant une demi-heure, nous avons constaté la perte de la plus grande partie de l'activité (plus de 75 %).

Les solutions alcooliques datant du 6 octobre 1946, laissées à température ordinaire jusqu'au 29 mars 1947, avaient gardé toutes leurs propriétés.

Il n'en est pas ainsi des suspensions aqueuses. Nous avons préparé une suspension aqueuse titrant 1 mg. par centimètre cube qui fut laissée à la température du laboratoire (20°) pendant la durée de l'expérience, et nous avons comparé quotidiennement son activité antibactérienne avec celle d'une suspension de même titre, préparée extemporanément chaque jour et provenant de la même solution alcoolique.

Pendant les six premiers jours nous n'avons noté aucune baisse de l'activité antibactérienne.

Le septième jour l'activité était réduite de moitié.

Le huitième jour l'activité était réduite au quart.

Le neuvième jour l'activité était réduite au huitième.

Les quatre jours suivants, l'activité oscillait entre le huitième et le seizième de l'activité d'origine.

Enfin le quinzième jour l'activité avait pratiquement complètement disparu.

Les suspensions aqueuses peuvent donc être considérées comme stables pendant une période de six à huit jours.

Les Américains attribuent la perte de l'activité, non pas à la destruction du produit mais à la rupture de l'équilibre physique de la suspension.

La tyrothricine donne les réactions des protéines et contient environ 14,1 % d'azote en moyenne (méthode KJELDAHL). Le principe actif ne dialyse pas à travers les membranes de collodion.

Après passage sur filtre Berkefeld, les préparations se montrent encore actives, mais moins qu'auparavant.

Après passage sur bougie Chamberland, on note une perte totale d'activité.

Les Américains ont constaté que les différentes tyrothricines obtenues à partir de souches différentes de Bacillus Brevis présentent quelques différences physiques et chimiques (en particulier les proportions relatives de gramicidine et de tyrocidine qui entrent dans la composition de chaque échantillon, la gramicidine formant de 15 à 20 % du produit brut). Mais, fait curieux, l'activité bactéricide par unité de poids de ces différentes préparations apparaît du même ordre.

2) *La gramicidine,* que l'on peut, comme nous l'avons vu, obtenir par cristallisations à partir de solutions acétoniques, est soluble dans l'alcool et l'acétone, et très peu soluble dans l'eau et les solvants ordinaires.

Son point de fusion est de 228-230° C.

Le pourcentage d'azote total mesuré par la méthode de KJELDAHL est de 14,8.

C'est un polypeptide qui ne contient aucun groupe amine ou carboxyle libre. Parmi les acides aminés qui entrent dans sa composition on a trouvé du tryptophane, de la d-leucine et de l'alanine.

On a trouvé pour la gramicidine des poids moléculaires variant entre 600 et 3.100. Parmi les formules possibles, DUBOS et HOTCHKISS ont proposé : C74, H105, N15, O13 (poids moléculaire 1413).

3) *Le chlorhydrate de tyrocidine* cristallise à partir de solutions alcooliques contenant quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Comme la gramicidine, il est soluble dans l'alcool et l'acétone, très peu soluble dans les solvants ordinaires.

Son point de fusion est de 240° C.

Le pourcentage d'azote total mesuré par la méthode de KJELDAHL est de 14,3.

Le chlorhydrate de tyrocidine est un sel d'un polypeptide qui, contrairement à la gramicidine, possède des groupements amines basiques libres. On en a détaché du tryptophane, de la tyrosine, de la phénylalamine, de la proline, de l'ornithine, de la leucine et des acides dicarboxyliques. DUBOS et HOTCHKISS ont proposé la formule C126, H166, N26, O26 (poids moléculaire 2534).

4) *La gramicidine* S de GAUSE apparait, par ses qualités physiques et chimiques, différente de tous ces produits. Tout d'abord, et contrairement à la tyrothricine, la gramicidine S pure cristallise à partir des solutions alcooliques.

Son point de fusion est de 268-270° C.

Elle contient 13,0 % d'azote total.

Elle ne contient pas de tryptophane. Elle contient de l'ornithine et de la leucine.

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE IN VITRO DE LA TYROTHRICINE ET DE SES COMPOSANTS

Dès les premiers travaux de DUBOS (1939) la tyrothricine parut avoir une activité antibactérienne considérable vis-à-vis des germes Gram +. Un peu plus tard furent précisées les activités respectives des composants.

Nous décrirons d'abord les méthodes d'étude utilisées puis les résultats ainsi trouvés.

A) MÉTHODES D'ÉTUDE DE L'ACTION ANTIBACTÉRIENNE.

1°) *Méthode des tubes de bouillon de culture.* — Cette méthode consiste à préparer d'abord un milieu de culture adéquat pour le germe que l'on veut étudier, puis à répartir ce bouillon dans des tubes à essais à raison de 9 centimètres cubes par tube. Enfin on prépare une série de suspensions aqueuses de tyrothricine à des dilutions croissantes, par exemple :

1 mg. par cm^3 — 0,1 mg. par cm^3 — 0,01 mg. par cm^3 — 0,001 mg. par cm^3 — 0,0001 mg. par cm^3, et on ajoute un centimètre cube d'une des suspensions dans un des tubes de bouillon, ce qui a pour effet de diluer la tyrothricine une nouvelle fois au 1/10e. On obtient ainsi des suspensions finales dans le bouillon de :

0,1 mg./cm^3 — 0,01 mg/cm^3 — 0,001 mg./cm^3 — 0,0001 mg./cm^3 — 0,00001 mg./cm^3.

Puis on ensemence chacun des tubes ainsi préparés avec une goutte d'une culture de 12 heures du germe à étudier (culture plus ou moins diluée suivant le germe). On ensemence également un tube témoin ne contenant pas de produit actif.

La série de tubes est alors mise à l'étuve à 37° C. pendant 12 heures (1). L'action bactériostatique est jugée par l'absence de développement du germe dans certains tubes.

Le contenu de chaque tube est ensuite ensemencé sur gélose nutritive et l'absence de développement permet de juger l'action bactéricide. On peut également repiquer sur milieu liquide ou injecter une certaine quantité du milieu à un animal sensible dont on étudie les réactions.

L'examen microscopique permet de juger l'action bactériolytique. Cette action peut également être jugée par la méthode turbidimétrique.

On peut ainsi évaluer grossièrement la sensibilité du germe.

En resserrant peu à peu l'échelle des dilutions on arrive à déterminer avec plus de précision la concentration minima par cm^3 qui produit une action bactériostatique ou bactéricide ou bactériolytique.

C'est la méthode que nous avons employée pour rechercher l'activité de la tyrothricine, que nous avons produite au Centre Cabanel, sur des souches connues de germes.

C'est également la méthode que nous avons utilisée en clinique pour rechercher la sensibilité au produit du germe provenant d'une infection semblant cliniquement justiciable de cette thérapeutique. Cette méthode présente deux points délicats : la variation des bouillons de viande suivant les viandes et celle de leur pH d'une part, les possibilités de contamination au cours des manipulations, lorsqu'on est obligé de manipuler sur une grande échelle, d'autre part.

2°) *Méthode des suspensions microbiennes* (employée par Dubos).

On fait pousser le germe, dont on recherche la sensibilité, pendant huit heures sur bouillon. Puis par centrifugation on

(1) Ce délai peut varier selon le germe à étudier. Ce délai de 12 heures est le plus souvent valable.

isole les corps microbiens, et on les remet en suspension dans des solutions tamponnées à pH 7,4, de manière à ce que chaque centimètre cube de suspension contienne 10^{10} germes.

Ces suspensions sont alors réparties dans des tubes à essais à raison d'un centimètre cube par tube.

A chacun des tubes ainsi préparés, on ajoute une quantité différente de suspension de tyrothricine, on amène le mélange à un volume donné et on place les tubes dans l'étuve à 37°.

Après trois heures à 37°, on observe les différentes préparations au point de vue turbidimétrique (lyse) et microscopique, et on repique sur milieu solide adéquat pour déterminer l'effet du produit sur la viabilité des germes, selon la concentration.

C'est une méthode que nous avons également employée, mais qui est un peu plus délicate que la précédente, car elle augmente le nombre des manipulations, donc des possibilités de contamination lorsqu'on travaille sur une grande variété de lots.

3°) *Méthode des cultures de tissu* (HERREL et Dorothy HEILMAN).

Le milieu de la culture de tissu consiste en une goutte de plasma hépariné de sang de lapin, en trois gouttes d'extrait de tissu, obtenu à partir d'embryon de poulet de 7 jours, et en sérum de lapin. Cette préparation est mise sur un plat en verre circulaire de 22 mm. de circonférence. A la préparation on ajoute un explant provenant d'un ganglion lymphatique extrait du mésentère d'un lapin, chaque explant mesurant approximativement 1,5 mm. Le volume total des cultures est d'environ 0,2 cm^3.

Les cultures microbiennes utilisées pour ces travaux se font sur bouillon de cervelle au dextrose; on ajoute 1 cm^3 de sérum de lapin pour les cultures de pneumocoques et de streptocoques hémolytiques. On fait des dilutions des cultures de germes dans du bouillon et on les ajoute aux cultures de tissu

dans la proportion de une partie de suspension de bactéries en bouillon pour quarante parties d'extrait de tissu. La concentration finale de la culture bactérienne d'origine dans les extraits de tissu, se fait environ au 1/10.000.000. L'inoculation se manifeste par l'apparition d'une vingtaine de colonies bactériennes dans chaque préparation de culture de tissu. Certaines souches de streptocoques hémolytiques poussent seulement au voisinage des fragments de tissu; il est d'ailleurs nécessaire pour ces souches d'utiliser une dilution de 1/1.000.000.

On prépare, à partir des solutions alcooliques stables de tyrothricine, de tyrocidine ou de gramicidine, des suspensions aqueuses; on ajoute une partie de ces suspensions de titre connu à dix parties de plasma et culture de tissu. On utilise ainsi jusqu'à 300 microgrammes de produit par centimètre cube de milieu. On prépare également des mélanges d'alcool et d'eau dans les mêmes proportions, mais sans produit actif, mélanges que l'on ajoute dans les mêmes conditions à d'autres milieux de culture qui servent de témoins.

Les cultures sont portées à l'étuve à 37° et les lectures sont faites après 48 heures avec un grossissement de 7 diamètres.

On détermine ainsi la plus petite quantité de produit suffisante pour empêcher l'apparition de colonies microbiennes dans les cultures, après 48 heures d'étuve.

Dans les cas où aucune colonie n'est visible, on repique comme dans les méthodes précédentes pour déterminer s'il y a ou non des bactéries viables.

B) Résultats

Nous résumerons d'abord les résultats qui ont été ainsi obtenus tant par les Américains pour la tyrothricine, la tyrocidine et la gramicidine, que par les Russes pour la gramicidine S. Nous exposerons ensuite les résultats que nous avons obtenus ou qui nous ont été communiqués pour la tyrothricine que nous avons produite :

1°) Tyrothricine.

Dubos, puis Hotchkiss, puis différents auteurs américains, ont publié depuis 1939 les résultats obtenus concernant l'activité antibactérienne de la tyrothricine.

a) *Action bactériostatique.* — Des quantités minimes de produit ajoutées à des bouillons de culture empêchent le développement des cocci Gram +. Le germe le plus sensible est le pneumocoque : 0,5 à 2,5 microgrammes de tyrothricine par centimètre cube de milieu suffisent à empêcher son développement. Pour les différents streptocoques, il faut de 5 à 10 μ g. par centimètre cube de bouillon et pour le staphylocoque doré il faut de 100 à 300 μ g. par centimètre cube. Ramelkamp, qui a étudié à cet égard de nombreuses souches de staphylocoques dorés,

		Organismes								
		Pneumocoque (I)	Staphylocoque doré	Staphylocoque blanc	Strepto. viridans	Strepto. hémolyt.	N. Catarrhalis	E. Typhosa	E. Coli	S. Paratyphi
Quantité utilisée μg par cm3	1	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	—	+	+	—	—	+	+	+	+
	10	—	+	+	—	—	+	+	+	+
	25	—	+	—	—	—	+	+	+	+
	50	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	100	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	200	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	400	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	600	—	—	—	—	—	±	+	+	+
Tém.		+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tableau 3 (Stokes et Woodwards).

Action des souches actives de bacilles sporulants du sol sur différentes bactéries.

\+ développement du germe
— inhibition du germe
± développement insuffisant du germe

a d'ailleurs noté que seules certaines souches sont sensibles à cet antibiotique, d'autres continuant à se développer avec des concentrations supérieures à 300 μ g. par centimètre cube (12).

Des bacilles sporulants Gram + mal différenciés ont été reconnus également sensibles à l'action du produit, à des concentrations variant de 1 à 100 μ g. par centimètre cube.

Les germes Gram — ne sont absolument pas influencés dans leur croissance par la présence de tyrothricine, même à des doses considérables et même lorsqu'on ensemence le milieu avec un très petit nombre de germes. Quelques résultats sont donnés dans le tableau 4, page 44.

b) Action bactéricide. — Les résultats américains montrent que les cocci Gram + sont rapidement tués par des concentrations suffisantes de tyrothricine : par exemple 1 mg. suffit pour tuer 10^{10} pneumocoques en 2 heures à 37°. Mais on retrouve là aussi une différence suivant les germes. Pour classer les germes, DUBOS détermine la quantité minima de produit nécessaire pour tuer le même nombre de germes d'espèces différentes en un temps donné (ou encore le temps requis par une même quantité de produit pour tuer le même nombre de germes).

On constate ainsi (tableau 4) que le pneumocoque, le streptocoque viridans et certains streptocoques hémolytiques ne nécessitent que 0,01 mg. de produit pour 10^9 cellules. Le staphylocoque doré des souches utilisées nécessite 0,1 mg. pour 10^9 cellules. Certains streptocoques hémolytiques nécessitent de 1 à 5 mg. Aucun des germes Gram — n'est détruit.

c) Action bactériolytique. — Dès son premier rapport sur ses travaux, DUBOS a constaté que 1 mg. de tyrothricine ajouté à 10^9 pneumocoques dans un milieu de culture à pH 7,5 entraîne la lyse complète des cellules bactériennes après 1 heure à 37°. Mais on a bientôt remarqué que les germes sensibles à l'action bactériostatique ou bactéricide n'étaient pas tous lysés de la même manière (tableau 4).

En effet, en cas de pneumocoques, de staphylocoques ou du

Organismes		Quantité de tyrothricine (mg. pour 10^9 de cellules)				
		5	1	0,1	0,01	0
8 souches Diplococcus pneumoniae	Lyse	C	C	C	P	N
	viabilité	—	—	—	—	++++
	Réduction	NR	NR	NR	NR	CR
Strepto. Hémolytique groupe A (7 souches)	Lyse	P ou N	N	N	N	N
	viabilité	—	—	—	—	++++
	Réduction	NR	NR	NR	NR	CR
Strepto. Hémolytique groupe C (3 souches)	Lyse	P ou N	N	N	N	N
	viabilité	—	—	—	—	++++
	Réduction	NR	NR	NR	NR	CR
Strepto. Hémolytique groupe D (3 souches)	Lyse	N	N	N	N	N
	viabilité	—	+	+++	+++	++++
	Réduction	NR	PR	CR	CR	CR
Strepto. viridans 2 souches	Lyse	P ou N	N	N	N	N
	viabilité	—	—	—	—	++++
Strepto. indifférent 2 souches	Lyse	N	N	N	N	N
	viabilité	—	—	—	—	++++
Staphylo. doré 2 souches	Lyse	C	C	P	N	N
	viabilité	—	—	—	++++	++++
	Réduction	NR	NR	NR	CR	CR
bacille sporulant gram +	Lyse	X	C	X	X	N
Escherichia coli	Lyse	N	N	N	N	N
	viabilité	++++	++++	++++	++++	++++
	Réduction	CR	CR	CR	CR	CR
Hémophilus influenzae	Lyse	N	N	N	N	N
	viabilité	++++	+++	+++	+++	+++
Klebsiella pneumoniae groupe B	Lyse	N	N	N	N	N
	viabilité	++++	++++	++++	++++	++++
	Réduction	CR	CR	CR	CR	CR
bacille sporulant Gram —	Lyse	X	NR	X	X	N
	viabilité	X	+++	X	X	++++

TABLEAU 4 (DUBOS)

Action de la tyrothricine sur différentes bactéries

C : Lyse complète.
P : lyse partielle.
N : lyse nulle.
— : pas de croissance sur gélose nutritive.
+ : croissance réduite.
++++ : croissance abondante.
CR : réduct. complète du bleu de méthylène
PR : réduction partielle.
NR : réduction nulle
X : expérience non faite.

bacille sporulant Gram +, la mort de la cellule bactérienne s'accompagne de lyse. Au contraire, les différents streptocoques ne sont pratiquement pas lysés, même avec des doses 100 fois supérieures aux doses bactéricides.

Il semble donc qu'il n'y ait pas de parallélisme entre l'effet lytique et l'effet bactéricide. Cet effet lytique apparaît comme un effet secondaire et l'on trouve d'ailleurs de nombreux exemples de lyses secondaires lors de traitements effectués avec certains antiseptiques (métaux lourds, acétone, etc...). Les sels biliaires ne lysent pas non plus les pneumocoques, mais infligent à la fonction métabolique essentielle de la cellule bactérienne un traumatisme qui n'atteint pas les enzymes autolytiques. Le système autolytique, qui dans la cellule vivante est maintenu dans un état d'équilibre, entre en action à la suite du traumatisme et l'autolyse s'ensuit. DUBOS explique de la même façon l'action bactériologique de la tyrothricine. Il confirme cette théorie en chauffant les pneumocoques ou les staphylocoques de façon à détruire l'enzyme autolytique et à ce moment la lyse ne se produit plus.

d) Action sur la déhydrogénase. — Les cocci Gram + qui sont mis à l'étuve à 37° avec de la tyrothricine dans le milieu perdent leur propriété de réduire le bleu de méthylène en présence de glucose. Les résultats du tableau 4 montrent que les doses varient avec les germes : certains streptocoques nécessitant de 1 à 5 mg. pour 10^9 cellules, les staphylocoques 0,1 mg. pour 10^9 cellules, les pneumocoques et les autres streptocoques 0,01 mg. pour 10^9 cellules.

On retrouve donc ici un parallélisme entre la viabilité et l'action sur la déhydrogénase. De plus cette inactivation de la déhydrogénase se fait avant toute altération morphologique des cellules microbiennes. Ceci confirme la théorie de DUBOS exprimée dans le chapitre précédent : l'inactivation de la déhydrogénase traduit une réduction du métabolisme de la cellule, et c'est secondairement que l'autolyse microbienne s'effectue.

Ceci suggère que l'effet toxique, exercé par la tyrothricine sur les cocci Gram +, pourrait être dirigé contre le système

déhydrogénase de la cellule microbienne, car la perte de viabilité apparaît liée quantitativement à l'inactivation de la déhydrogénase.

Le tableau 4 montre que chez les germes Gram — la glucose déhydrogénase n'est en rien affectée par le traitement à la tyrothricine.

De tous ces résultats, il apparait que la tyrothricine est un agent sélectif entre les germes Gram + et les germes Gram —. STOKINGER, ACKERMAN et CARPENTIER (15) ont voulu l'utiliser pour isoler le gonocoque des écoulements à germes multiples. Ils emploient la concentration de 1/15.000 dans des cultures sur agar au sang, concentration qui permet d'empêcher la croissance des autres germes sans influer sur celle du gonocoque.

2°. — GRAMICIDINE ET TYROCIDINE.

DUBOS et HOTCHKISS ont montré que, en dépit de leur origine et de leur composition chimique assez voisines, la gramicidine et la tyrocidine diffèrent notablement dans leurs propriétés biologiques.

a) Certes, les deux substances empêchent ou retardent la croissance de la plupart des germes Gram + lorsqu'elles sont présentes dans le milieu de culture à raison de quelques dizaines ou centaines de microgrammes par centimètre cube.

b) Mais la gramicidine a un effet bactériostatique beaucoup plus marqué que la tyrocidine. L'inhibition de croissance est réalisée avec une concentration beaucoup plus faible pour la gramicidine que pour la tyrocidine. Le tableau 5 publié par HERREL et HEILMAN compare ces activités bactériostatiques à l'égard de pneumocoques, streptocoques et staphylocoques.

c) D'autre part la gramicidine n'est pour ainsi dire jamais bactéricide et bactériolytique. La tyrocidine, par contre, exerce un effet bactéricide net et un effet bactériolytique, qui comme celui de la tyrothricine semble être un processus secondaire.

d) Enfin, alors que la gramicidine n'exerce son effet bacté-

Organismes	Souches	Gramicidine µg par cm3	Tyrocidine µg par cm3
Diplococcus pneumoniae			
Type I		1,0	100
» III	1	0,5	20
» III	2	1,0	20
» XIX		2,5	40
Strepto. Hémolytique	1	5,0	80
(groupe A)	2	5,0	100
	3	5,0	80
	4	10,0	100
	5	20,0	120
Strepto. viridans	1	10	60
	2	60	120
Strepto. faecalis	1	40	300
	2	60	x
	3	20	260
	4	60	300
Staphylocoque doré	1	100	140
	2	x	x
	3	300	x
	4	x	x
	5	x	x
	6	300	300

Tableau 5 (*Herrel*).

Action comparée de la gramicidine et de la tyrocidine sur différents germes.

riostatique que sur les organismes Gram +, la tyrocidine à fortes concentrations semble quelque peu inhiber les cocci Gram — (gonocoque et méningocoque).

3°. — La Gramicidine S.

Gause et Brazknikova (50) ont trouvé pour la gramicidine S des propriétés hautement bactériostatiques et bactéricides, le taux de concentration bactéricide approchant dans la plupart des cas du taux de concentration bactériostatique. Les résul-

tats obtenus par GAUSE sur quelques organismes sont réunis dans le tableau 6.

Organismes	Taux de gramicidine S bactériostatique (en μg par cm3)
Staphylocoque doré (18 souches)	10
Streptocoque (10 souches)	10
Pneumocoque	10
Clostridium Welchii	7
Cl. Hystolyticum	7

TABLEAU 6

Ces résultats montrent que la gramicidine S semble nettement plus efficace que la tyrothricine à l'égard du staphylocoque doré. Par contre, la tyrothricine est plus active à l'égard du streptocoque et du pneumocoque.

La gramicidine S agit, d'après GAUSE, sur un certain nombre d'organismes Gram —. Son action serait donc nettement moins sélective que celle de la tyrothricine.

Le tableau 7 montre l'action de la gramicidine S comparée à celle de la tyrothricine sur les organismes Gram —.

Il ressort de ce tableau que la gramicidine S, contrairement à la tyrothricine empêche le développement de plusieurs variétés de bactéries Gram —.

4°. — En ce qui concerne la tyrothricine que nous avons produite au Centre Cabanel, les résultats sont en gros très voisins de ceux trouvés par les Américains.

a) D'une façon générale en effet, les organismes Gram + sont sensibles, notamment le pneumocoque, à la concentration de 0,5 μ g. par centimètre cube de milieu de culture (renseignement fourni par Monsieur le Docteur REILLY) (Hôpital Cl. Bernard). Les streptocoques sont sensibles à des concentrations variant de 0,5 à 10 μ g. par centimètre cube et le staphylocoque offre une résistance très variable selon les souches.

La souche de staphylocoque de Londres utilisée au Centre pour les dosages de pénicilline, et que nous avons utilisée également pour nos dosages de tyrothricine (voir chapitre dosages) est sensible à la concentration de 0,5 μ g. par centimètre cube environ.

		Organismes					
		Salmonella abdominalis	S. paratyphique A	B. dysentérique	Vibrion cholérique	B. proteus vulgaris	Colibacille
Gramicidine S (μg par cm3)	400	—	—	—	—	—	—
	200	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—
	50	—	—	—	—	+	—
	25	+	+	—	—	+	—
	12	+	+	—	+	+	+
	6	+	+	+	+	+	+
	T	+	+	+	+	+	+
Tyrothricine (μg par cm3)	400	+	+	+		+	+
	200	+	+	+		+	+
	100	+	+	+		+	+
	50	+	+	+		+	+
	25	+	+	+		+	+
	12	+	+	+		+	+
	6	+	+	+		+	+
	T	+	+	+		+	+

Tableau 7

+ : Développement.
— : Absence de développement.
T : Témoin.

Sur 3 souches de staphylocoques dorés que nous avons testées, une s'est avérée sensible à la concentration de 35 μ g. par centimètre cube, une autre à la concentration de 80 μ g. par centimètre cube, la troisième n'était pas influencée par une concentration atteignant 200 μ g. par centimètre cube.

Par ailleurs, nous avons éprouvé la résistance du bacille de Lœffler à la tyrothricine. Monsieur le Docteur REILLY a trouvé à l'Hôpital Claude Bernard que la croissance de ce germe était inhibée à la concentration de 7,5 μ g. par centimètre cube. Les expériences du même ordre faites au laboratoire de Monsieur le Docteur HUBER aux Enfants-Malades ont montré que les concentrations suffisantes pour inhiber la croissance du germe étaient inférieures à 10 μ g. par centimètre cube.

b) Par contre, les essais effectués « in vitro » sur deux souches de colibacilles et une souche de gonocoque, ont montré la résistance de ces germes à l'action du produit.

Les concentrations aussi élevées que 500 μ g. par centimètre cube n'entravent pas leur développement dans des conditions analogues, même si l'on dilue considérablement la culture d'ensemencement.

Par ailleurs notre produit a été étudié « in vitro » pour son pouvoir bactériostatique, bactéricide et bactériolytique au Laboratoire de Recherches Vétérinaires de l'Armée.

Les germes d'épreuves provenaient dans cette expérimentation, soit de souches anciennes du Laboratoire, soit de prélèvements opérés sur des foyers d'infection d'animaux malades.

Les résultats furent les suivants :

Un streptocoque (cheval) sensible à une dilution au 1/50.000.

Un cutis communis (mulet) sensible à une dilution au 1/50.000.

Différentes souches de staphylocoques sensibles aux points de vue bactériostatiques, bactéricides et bactériolytiques à des dilutions variant de 1/2.500 à 1/10.000.

Une souche de bactéridie charbonneuse du Laboratoire sensible à la dilution de 1/1.000.

Les germes Gram — essayés : Bacille de la morve (mulet), para B équin, Brucella S (vache) et un bacille indéterminé (cheval) ne sont absolument pas influencés par le produit.

On peut encore conclure de ces expériences que :

— l'action de la tyrothricine est sensiblement identique sur un même germe, qu'il soit isolé depuis peu et encore virulent, ou qu'il provienne d'une souche ancienne et quasi-avirulente du laboratoire;

— les résultats sont les mêmes que la suspension de tyrothricine soit préparée extemporanément ou qu'elle soit vieille de 2 à 8 jours;

— les mêmes résultats ont été obtenus avec des lots différents de tyrothricine provenant du Centre Cabanel.

5°. — Variations de l'activité de la tyrothricine « in vitro » selon certains facteurs.

a) *Effet de la concentration.* — Alors que l'augmentation de la concentration accroît l'action de la plupart des antimicrobiens ordinaires, Garrod a montré que l'inverse est souvent vrai dans le cas de la pénicilline : dans une expérimentation faite sur le staphylocoque doré, il a montré en effet que la destruction des microbes est beaucoup plus rapide avec une concentration de 1 unité par centimètre cube qu'avec une concentration de 1.000 unités par centimètre cube.

Ce phénomène ne semble pas exister pour la tyrothricine, la lyse d'une souche de staphylocoque d'Oxford se faisant d'autant plus lentement que la concentration est plus faible (concentration variant de 1 à 0,01 mg. par centimètre cube dans le cas de notre expérimentation).

b) *Effet du pH.* — Nous avons vu que la tyrothricine est stable de pH 3 à pH 8. Il semble que le pH optimum se situe vers 5,5-6 pour l'activité antibactérienne. Mais dans le cas de notre expérimentation (lyse de staphylocoques d'Oxford) les variations de pH n'ont que peu influé sur la vitesse de destruction des corps microbiens.

c) *Effet de la température.* — L'action de la tyrothricine croît avec la température. Les expériences que nous avons faites nous ont montré que l'action lytique vis-à-vis du staphylocoque

d'Oxford est plus rapide à 37° qu'à 20°, plus rapide à 20° qu'à 10° et pratiquement nulle à 0°.

Cette variation d'action se fait donc dans le même sens que pour la pénicilline qui est également plus active à 37° qu'à 20° et plus active à 20° qu'à 10°, etc...

Là réside peut-être une des supériorités de la tyrothricine sur la pénicilline : la première se détitrant assez rapidement à 37° alors que la seconde est stable à cette température.

6°. — Inhibiteurs de la tyrothricine et de ses composants.

Hotchkiss a montré que la présence de certains corps ou de certains complexes faisaient perdre aux différents antibiotiques que nous étudions leur propriété antimicrobienne. C'est ainsi que la présence de sang, de sérum ou d'extraits de tissu neutralise complètement l'activité de la tyrothricine et de la tyrocidine. alors que, dans les mêmes conditions, la gramicidine conserve son activité.

Ceci est probablement dû à la précipitation du produit actif par les solutions d'électrolytes que sont le sang ou le sérum sanguin.

Cette diminution de l'activité du produit en présence de sang ou de sérum sanguin amène évidemment des déductions thérapeutiques que nous envisagerons ultérieurement.

De même certains lipides (céphalines) neutralisent complètement l'activité de la gramicidine « in vitro ». Nous reprendrons cette question plus en détail lors de l'étude de ces produits « in vivo » et de leur mode d'action.

En résumé, les différents produits envisagés ont une action bactériostatique puissante à l'égard des germes Gram + (sauf la gramicidine S quelque peu active sur les Gram —) et parfois, en se plaçant dans des conditions expérimentales adéquates, une action bactéricide et bactériolytique à l'égard de certains germes.

ACTIVITE DE LA TYROTHRICINE "IN VIVO"

Dès ses premières expérimentations, DUBOS put montrer que la tyrothricine était active « in vivo » : une simple injection de 2 mg. protège la souris contre 1.000 à 10.000 doses mortelles de cinq souches différentes de pneumocoques. En répétant les injections, on peut éviter la mort qu'entraîneraient des doses encore plus considérables. Toutes ces injections de produit étaient faites en même temps que les injections de pneumocoques. Mais DUBOS a encore montré que, faite plusieurs heures après l'injection de pneumocoques, l'injection de tyrothricine exerce un effet curatif.

Enfin expérimentant avec du streptocoque, DUBOS a montré que là encore, la tyrothricine avait un effet protecteur.

Le tableau 8, montre l'effet de trois injections abdominales faites pendant trois jours consécutifs sur des souris infectées par des doses variables de différentes souches de pneumocoques.

Par contre, expérimentant avec des germes Gram —, DUBOS retrouva les résultats qu'il avait obtenus « in vitro » : des souris ayant reçu des doses même faibles de bacille de Fried lander ne furent en rien protégées par une injection de tyrothricine.

Plus tard, DUBOS et HOTCHKISS reprirent cette expérimentation avec la gramicidine et la tyrocidine : ces deux produits se révélèrent actifs sur les souris ayant reçu une injection intrapéritonéale de pneumocoques. Il semble toutefois que la gramicidine présente une efficacité beaucoup plus marquée.

DUBOS crut alors avoir trouvé un agent bactéricide hautement actif et susceptible d'être utilisé pour le traitement général des infections à cocci Gram +. Malheureusement ce n'était

pas le cas, à cause des effets toxiques violents que présentent ces produits, comme nous le verrons ultérieurement.

D'autres recherches sur l'activité de la tyrothricine « in vivo » furent faites aux Etats-Unis, en particulier par RAMMELKAMP et WEINSTEIN. Ils trouvèrent, par exemple, que le lactobacillus acidophilus était sensible « in vitro » à l'action du produit. Mais en administrant la tyrothricine à des doses qui pouvaient être considérées comme satisfaisantes pour l'expérimentation per os, elle ne montra aucune action sur le germe. Les auteurs attribuent ce résultat au fait que la tyrothricine et ses composants sont probablement détruits dans le tractus intestinal.

Doses de pneumocoques injectées		Tyrothricine injec. en 3 jours consécutifs			Nomb. de souris	Résultats					
	cc.	mg	mg	mg		x					
Type I	0,1	2	1	1	6	M 22	S	S	S	S	S
	0,01	2	1	1	6	M 22	S	S	S	S	S
	0,000.000.01	0	0	0	1	M 40					
Type II	0,1	2	1	1	6	M 26	S	S	S	S	S
	0,01	2	1	1	6	M 22	S	S	S	S	S
	0,000.000.01	0	0	0	1	M 72					
Type III	0,1	2	1	1	6	M 72	M 72	M 72	M 72	S	S
	0,01	2	1	1	6	M 72	M 72	S	S	S	S
	0,000.000.01	0	0	0	1	M 60					
Type V	0,1	2	1	1	6	M 72	S	S	S	S	S
	0,01	2	1	1	6	S	S	S	S	S	S
	0,000.000.01	0	0	0	1	M 72					
Type VIII	0,1	2	1	1	6	M 22	M 22	M 40	M 48	S	S
	0,01	2	1	1	6	M 22	S	S	S	S	S
	0,000.000.01	0	0	1	1	M 40					

TABLEAU 8

Action protectrice de la tyrothricine contre les infections à pneumocoques de la souris.

x : heures écoulées entre l'infection et la mort.
M : Mort.
S : Survie.

Rammelkamp étudia encore l'efficacité de la tyrothricine sur des pleurésies purulentes expérimentales, dues au streptocoque hémolytique.

Cette expérience fut pratiquée sur le lapin. Rammelkamp injectait en une seule fois des doses variant de 3 à 40 mg. de produit soit au moment de l'infection, soit à des intervalles variables atteignant jusqu'à 18 heures après l'infection.

Dans ce dernier cas, lorsque le temps de latence était trop long, les lapins mouraient par extension de l'infection. Dans les autres cas la cavité pleurale fut trouvée absolument stérile au moment de l'autopsie.

Par contre, les infections pleurales à staphylocoques se montrèrent beaucoup plus résistantes que celles dues au streptocoque hémolytique : ceci n'est pas surprenant car, nous l'avons vu, certaines souches de staphylocoques se montrent résistantes « in vitro ». Les doses à injecter dans la plèvre deviennent alors considérables, ce qui nécessite une augmentation de la concentration du produit à injecter. Dans ce cas, il se produit de l'irritation pleurale.

De même, Rammelkamp a constaté que, chez le lapin, les infections du genou par des staphylocoques se montrent résistantes aux doses non irritantes de tyrothricine alors que les infections à streptocoques sont aisément stérilisées.

Tillett, Cambier et Harris ont étudié les relations existant entre la résistance aux sulfamides de certains organismes et la résistance à la tyrothricine de ces mêmes organismes. Les expériences pratiquées sur des souris ont montré qu'on ne peut établir aucun lien net entre la résistance des différentes souches aux deux produits (23).

D'autres expériences ont montré qu'en infectant la cornée d'un lapin avec du pneumocoque, et en appliquant des suspensions de tyrothricine en même temps, on peut prévenir l'infection. Au contraire, si l'on n'effectue l'application locale de tyrothricine que deux heures après l'inoculation des germes, l'effet thérapeutique obtenu est très faible : il est probable que la tyrothricine, qui est peu soluble, ne pénètre pas dans les tissus lorsque l'infection s'est établie.

En Russie, GAUSE et BRAZHNIKOVA ont publié des résultats quelque peu analogues. De plus, ils ont lacéré des plaies de muscles de cobaye et les ont infectées avec du Cl. Welchii. Ils les ont traitées tantôt avec une suspension aqueuse de gramicidine S (400 μ g. par cm^3) tantôt avec une solution saline physiologique (témoins). Puis ils suturèrent les plaies. La mortalité des animaux traités par la gramicidine S était de 5 % tandis que celle des témoins dépassait 50 %. Des expériences similaires ont été faites sur 48 rats blancs dont les plaies expérimentales étaient infectées avec une quantité déterminée de terre de jardin. La mortalité des animaux témoins était de 100 %, tandis que chez les rats traités par la gramicidine S la mortalité atteignait seulement 40 %. Il apparaît donc bien que la gramicidine S peut agir sur les infections anaérobies chez l'animal, ce qui n'est pas retrouvé dans la littérature américaine à propos de la tyrothricine.

Les résultats obtenus avec la tyrothricine que nous avons produite, se rapprochent des résultats obtenus « in vivo » par les Américains. Néanmoins la protection vis-à-vis des infections à cocci Gram + semble s'exercer pour des doses infectantes nettement moins élevées que chez les Américains.

C'est ainsi que Monsieur le Docteur REILLY qui a expérimenté à l'Hôpital Claude Bernard, sur la souris, le pouvoir protecteur de la tyrothricine vis-à-vis des infections à streptocoques et à pneumocoques, a bien voulu nous communiquer les résultats suivants :

1°. — PNEUMOCOQUE. — Souche mortelle pour la souris au 1/100.000.

5 souris reçoivent en injection intrapéritonéale 10 doses mortelles.

3 de ces souris reçoivent deux heures après l'injection de pneumocoques une injection intrapéritonéale de 2 mg. de tyrothricine.

Les deux autres souris ne reçoivent pas de tyrothricine (témoins). Les souris témoins meurent dans les 24 premières heures.

2 des 3 souris meurent le cinquième jour (prolongation de quatre jours).

1 souris meurt le septième jour (prolongation de six jours).

2°. — STREPTOCOQUE. — Souche mortelle pour la souris au 1/10.000.

Première expérience :

5 souris reçoivent en injection sous-cutanée 10 doses mortelles.

3 de ces souris reçoivent en même temps 2mg. de tyrothricine par voie intrapéritonéale.

Les 2 autres souris ne reçoivent pas de tyrothricine (témoins).

Les 2 témoins meurent en 24 heures.

Les 3 souris protégées survivent.

Deuxième expérience :

STREPTOCOQUE. — Même souche.

4 souris reçoivent en injection intrapéritonéale 100 doses mortelles.

3 de ces souris reçoivent en même temps 2mg. de tyrothricine par voie intrapéritonéale.

La quatrième souris ne reçoit pas de tyrothricine (témoin).

La souris témoin meurt en 24 heures.

Les 3 souris protégées survivent.

TOXICITE

Nous avons déjà dit, en étudiant l'expérimentation de la tyrothricine « in vivo », que cette étude était limitée par la toxicité considérable du produit. En effet, lors des premières injections à l'animal, il fut tout de suite évident que, malgré la protection apportée par la tyrothricine, celle-ci possédait un effet toxique indiscutable lors de l'administration aux animaux d'expérience. HERREL et Dorothy HEILMAN montrèrent que l'effet toxique le plus important était dû à l'activité hémolytique considérable du produit.

Nous examinerons donc d'abord l'effet hémolytique « in vitro », puis l'effet toxique vis-à-vis des cellules autres que les globules rouges, et enfin la toxicité sur les animaux d'expérience selon les différentes voies d'administration.

1°) EFFET HÉMOLYTIQUE DE LA TYROTHRICINE ET DE SES COMPOSANTS.

C'est au cours de leur étude de la tyrothricine dans les cultures de tissu que HERREL et Dorothy HEILMAN observèrent l'hémolyse d'hématies en suspension dans des cultures où avaient été ajoutées des quantités très faibles de produit actif. Ces expériences furent reprises avec des suspensions à 1 % de globules de lapin : un taux de 0,01 mg. de tyrothricine par centimètre cube de suspension suffit à provoquer une hémolyse en une heure, à 37° 5 C.

Avec 0,001 mg. par centimètre cube, l'hémolyse est complète en 24 heures. L'addition de sérum ne gêne aucunement

cette hémolyse, de même que la présence ou l'absence de complément.

Plus tard, une nouvelle série d'expériences faites à la clinique Mayo par les mêmes auteurs, a montré que les deux composants de la tyrothricine (gramicidine et tyrocidine) provoquaient chacun une hémolyse. A cet égard, l'effet de la tyrocidine se montre plus rapide que celui de la gramicidine mais, toute question de vitesse mise à part, le degré d'hémolyse causé par la gramicidine est beaucoup plus considérable que celui causé par la tyrocidine (35).

Il était évidemment tentant d'essayer de neutraliser ce pouvoir hémolytique et c'est ce que firent les Américains. Mais tous les efforts faits dans ce sens n'aboutirent pendant longtemps qu'à une perte de l'action antibactérienne.

Mais en 1945 Lewis (72) a étudié l'action du formol sur la tyrothricine et ses composants; il est ainsi arrivé à des résultats particulièrement intéressants :

Le traitement au formol fait perdre à la tyrothricine 80 à 90 % de son activité hémolytique initiale et 50 % seulement de son activité antibiotique.

Sur la gramicidine les résultats sont encore plus favorables : l'activité hémolytique est réduite dans des proportions comparables (80 à 90 %) alors que l'activité antibiotique mesurée par l'inhibition du staphylocoque ne subit pas de changement. De plus, il est intéressant de signaler que le nouveau produit est plus soluble dans l'eau que la gramicidine.

Le fait que l'activité toxique et hémolytique peut être diminuée sans que l'activité antibactérienne soit atteinte montrent que ces propriétés ne sont pas dépendantes de la même configuration moléculaire. De ce point de vue, l'action du formol sur la gramicidine est analogue à celle de ce produit sur les toxines bactériennes, pour lesquelles la toxicité est réduite mais non point l'activité antigénique.

Lawrence et Thompson étudièrent l'action de la tyrothricine en présence de sucre. A une suspension à 1 % de globules rouges de mouton, ils ajoutèrent des quantités variables de tyrothricine et de dextrose et obtinrent les résultats suivants :

1 μ g. de tyrothricine par cm^3 entraîne en 24 heures une hémolyse complète des globules rouges en présence de 184 mg. de dextrose pour 100 cm^3.

1 μ g. de tyrothricine par cm^3 entraîne en 24 heures une hémolyse nulle des globules rouges en présence de 396 mg. de dextrose pour 100 cm^3.

Mais 100 μ g. de tyrothricine par cm^3 entraînent en 24 heures une hémolyse complète des globules rouges en présence de 1.960 mg. de dextrose pour 100 cm^3.

Les concentrations en sucre nécessaires pour bloquer l'activité hémolytique dépassent donc de beaucoup les concentrations normales réalisables dans le sang des animaux et des êtres humains.

De plus, l'effet du dextrose n'est en aucune façon spécifique car, à une telle concentration, les solutions de glucose protègent les hématies contre de nombreux agents hémolytiques.

Il faut néanmoins retenir, sinon pour les injections du moins pour certaines applications cliniques, cette propriété des solutions sucrées de diminuer l'activité hémolytique sans diminuer l'activité bactérienne du produit.

Cet effet hémolytique puissant de la tyrothricine a, bien évidemment, des répercussions fâcheuses sur son mode d'emploi et il faut absolument éviter de le mettre au contact du sang circulant. Nous verrons dans un prochain paragraphe que les animaux d'expérience ne supportent pas l'injection intraveineuse de tyrothricine et de ses dérivés aux doses thérapeutiques.

2°) Effet de la tyrothricine et de ses composants sur les éléments cellulaires autres que les hématies.

D'une façon générale la plupart des auteurs américains estiment que la tyrothricine et ses composants ont une action peu toxique sur les éléments cellulaires (à part les hématies) aux concentrations requises pour l'activité antibactérienne.

Herrel et Heilman ont étudié les effets toxiques de la gramicidine et de la tyrocidine sur les leucocytes du sang humain

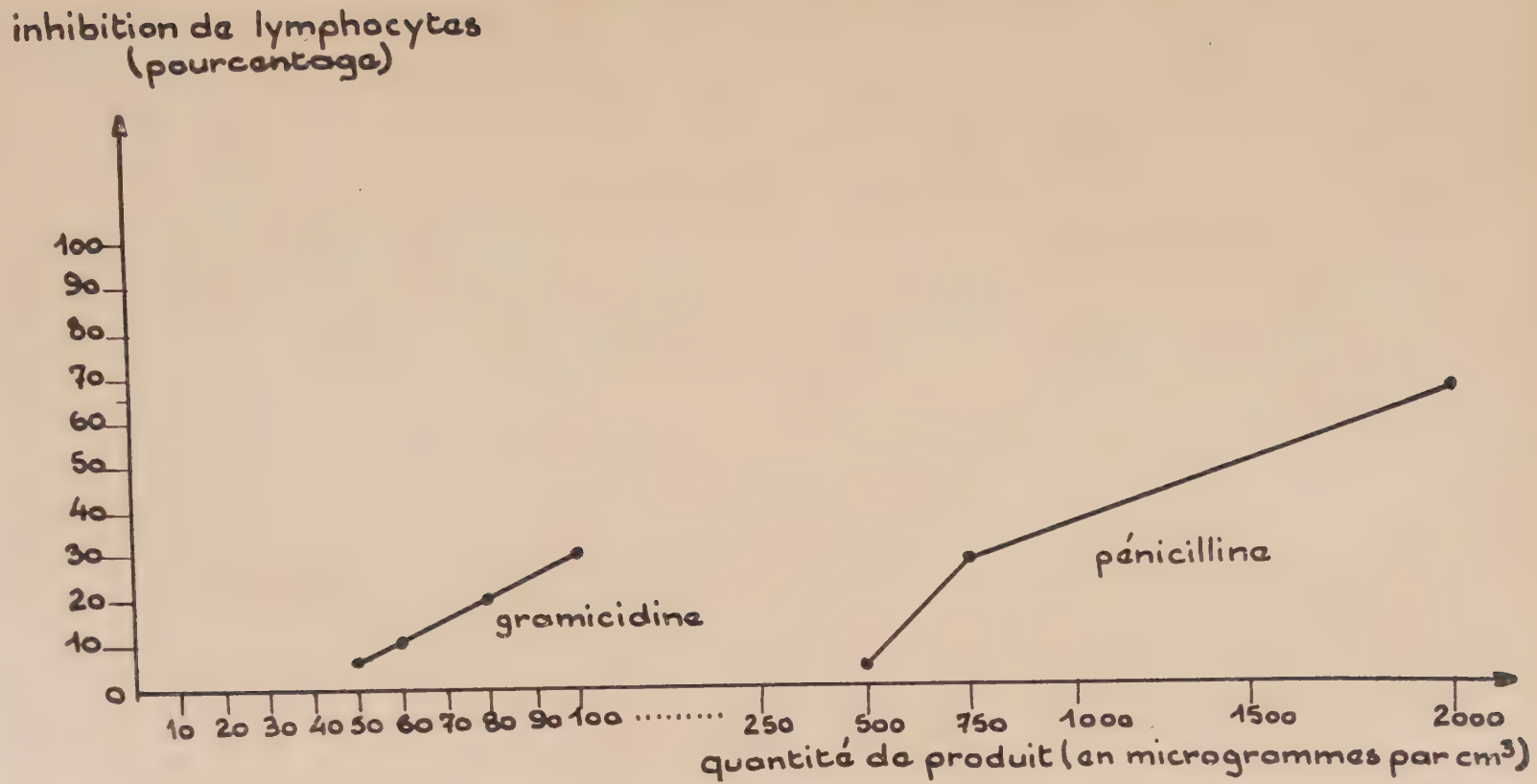

Figure 4 (HERREL).

Toxicité comparée de la gramicidine et de la pénicilline sur les lymphocytes

total (8). Ils n'ont trouvé aucune modification morphologique appréciable, même à des concentrations atteignant 100 microgrammes par centimètre cube.

Toutefois CLAPP (39) a constaté qu'à des concentrations très élevées la tyrothricine et la tyrocidine parvenaient à une désintégration cytoplasmique et nucléaire des polynucléaires du sang. Mais ces concentrations dépassent de beaucoup celles utilisées en clinique, et aux concentrations normales cet auteur n'a trouvé aucune lésion des cellules apparente au microscope. De plus, dans ce dernier cas, la phagocytose de pneumocoques par les leucocytes s'effectue normalement.

RAMMELKAMP et WEINSTEIN (40) ont montré une différence notable entre les effets de la tyrocidine et ceux de la gramicidine sur les leucocytes. D'après eux, à fortes concentrations, la tyrocidine peut avoir une action leucocytolytique que n'a pas la gramicidine.

HERREL et HEILMANN, dans leur étude sur les cultures de tissus, ont obtenu par contre des résultats très différents (32-41-42). Ils ont trouvé la gramicidine plus toxique que la tyrocidine et ont attribué à la gramicidine la toxicité de la tyrothricine. A des concentrations dépassant 100 microgrammes par centimètre cube, la gramicidine diminuait la mobilité des leucocytes alors que la tyrocidine n'avait sur eux que peu d'action à ces concentrations.

La figure 4 (d'après HERREL et HEILMANN) montre la toxicité comparée de la gramicidine et de la pénicilline.

HENLÉ et LITTLE ont étudié l'action des différents produits sur la mobilité des spermatozoïdes. Cette mobilité est très diminuée ou même complètement abolie en présence de 10 microgrammes de tyrothricine ou de gramicidine par centimètre cube. Par contre, aux mêmes concentrations, la tyrocidine a un effet pratiquement nul.

En résumé, aux concentrations thérapeutiques, l'action hémolytique de ces divers produits est considérable. Par contre, à ces mêmes concentrations l'activité sur les autres cellules est très faible.

3°) Toxicité pour les animaux d'expériences.

a) Voie intraveineuse. — La toxicité découle des notions précédentes, en particulier du pouvoir hémolytique.

Les expériences de Robinson et Molitor sur la souris blanche et le rat blanc déterminent les doses mortelles par kilogramme d'animal.

Ces expériences ont été faites avec une solution alcoolique diluée dans une solution physiologique stérile, le produit actif étant maintenu en suspension par de la gomme acacia.

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

	Dose mg par kilog.	Nombre de souris	% de mortalité temps en jours		
			1	2	7
Tyrothricine	1,20	10	0	0	9
	2,50	10	10	11	28
	3,75	10	29	38	60
	5,00	10	86	93	100
	10,00	10	100	100	100
	20,00	10	100	100	100
Gramicidine	0,625	10	0	0	0
	1,25	10	0	0	0
	2,50	10	33	36	40
	3,75	10	86	93	100
	5,00	10	100	100	100
	10,00	10	100	100	100
	15,00	10	100	100	100
Tyrocidine	1,25	10	0	0	2
	2,50	10	0	0	10
	5,00	10	0	0	18
	10,00	10	0	0	26
	15,00	10	15	15	45
	17,50	10	77	77	85
	20,00	10	95	95	96
	25,00	10	100	100	100
	30,00	10	100	100	100

Tableau 9 (Robinson et Molitor).

Toxicité de la tyrothricine et de ses composants par voie intra-veineuse.

On voit sur ce tableau que la gramicidine est nettement le produit le plus toxique, la tyrocidine l'est beaucoup moins.

Gause et Brazhnikova ont déterminé pour la gramicidine S que la dose entraînant 50 % de mortalité était de 3 mg. résultat du même ordre que pour la tyrothricine.

Les expériences effectuées avec la tyrothricine que nous avons produite au Centre Cabanel nous ont donné des résultats semblables. Sur 5 souris blanches qui ont reçu une dose unique de 2,50 mg. par kilo de poids corporel, 2 sont mortes dans les 24 premières heures, une dans les 24 heures suivantes, une 6 jours après, une a survécu.

Sur trois souris qui ont reçu 5 mg. par kilo de poids corporel, deux sont mortes dans les 24 premières heures, la troisième dans les 24 heures suivantes.

Sur trois souris qui ont reçu 1 mg. par kilo, une est morte le sixième jour, les deux autres ont survécu.

L'autopsie pratiquée sur plusieurs souris mortes dans les 24 heures a montré une altération considérable des globules rouges prélevés dans le cœur ainsi que de nombreuses petites hémorragies dans divers organes.

A des chiens, Robinson et Molitor ont injecté quotidiennement 2 mg. de gramicidine ou tyrothricine par kilogramme de poids. La mort survenait généralement du deuxième au huitième jour. Pendant cette période, l'animal perdait l'appétit, maigrissait, la sécrétion salivaire était énorme et le nombre de globules rouges tombait de 6.000.000 à 3.500.000 par millimètre cube de sang.

A l'autopsie de l'animal, on trouve une nécrose des cellules hépatiques avec hémorragies dans les sinusoïdes du foie, dans la rate et dans les glomérules des reins.

A Alfort, ces expériences ont été reprises sur deux chiens :

— Le premier âgé de 7 mois pesant 9 kilos reçut :

Le 11 janvier une injection intraveineuse de 10 cm^3 d'une suspension à 1 mg. par cm^3 (soit un peu plus de 1 mg. par kg.).

Dans la journée, perte d'appétit et abattement.

Le 12 janvier injection de 18 cm^3 de la même solution.

Le 13 janvier au matin l'animal est trouvé mort.

A l'autopsie : gastro-entérite diffuse, hémorragique par endroit, congestion des ganglions mésentériques avec légère hypertrophie (lésions insuffisantes pour expliquer la mort d'après le vétérinaire qui a fait l'injection).

Frottis du sang et de la rate : rien de particulier.

— Le second chien, âgé de 15 ans, pesant 6 kilos, reçoit :

Le 14 janvier une injection intraveineuse de 12 cm^3 d'une suspension à 1 mg. par cm^3, vers 9 heures.

Le mercredi 15 janvier, même injection vers 9 heures.

L'animal meurt au début de l'après-midi.

A l'autopsie : gastro-entérite très intense, hémorragique surtout au niveau de l'estomac qui renferme 5 à 6 cm^3 de liquide sanieux. Congestion des reins. Le cœur s'est arrêté en diastole.

b) Voies intradermique et intramusculaire.

Nous avons effectué des injections de petite quantité (0,1 mg.) de tyrothricine par ces voies chez le lapin. Nous avons obtenu chaque fois la formation d'un abcès stérile.

Les Américains ont montré que la dose de 0,01 mg. de tyrothricine suffisait à provoquer un abcès stérile, alors que pour produire le même résultat il fallait utiliser 0,2 mg. de gramicidine.

c) Voie intrapéritonéale. — Par voie intrapéritonéale ces différents produits exercent aussi leur toxicité, mais à des doses beaucoup plus importantes.

A titre d'indication, nous reproduisons ci-dessous, la série d'expériences de Robinson et Molitor pour la tyrothricine (tableau 10).

Les animaux sont immobiles, la température du corps s'abaisse et la mort semble due à un arrêt respiratoire.

En ce qui concerne la gramicidine S, les auteurs russes ont trouvé que par voie péritonéale la dose entraînant 50 % de mortalité par kilogramme de poids corporel était de 17 mg. environ.

Il est toutefois intéressant de remarquer que l'on a pu injec-

Mg/kilo. de poids	Souris	Pour cent de mortalité (temps en jours)		
		1	2	7
10	20	0	0	16
20	20	0	0	63
30	20	0	10	89
40	20	20	20	94
50	20	50	56	97
60	20	60	80	99
70	20	60	60	99
80	20	90	100	100
90	20	100	100	100

TABLEAU 10 (ROBINSON et MOLITOR).

Toxicité de la tyrothricine par voie intrapéritonéale.

ter des quantités de substances suffisantes pour protéger l'animal contre une infection fatale sans causer d'effet toxique.

d) *Per os.* — La tyrothricine n'est pas toxique.

Nous avons fait ingérer à des souris blanches des doses atteignant 1.000 mg. par kilogramme de poids corporel. Nous n'avons noté aucune réaction.

Mais par cette voie d'administration, la tyrothricine reste sans effet et il est très vraisemblable qu'elle est détruite très rapidement dans le tube digestif.

e) *En application locale.* — Sur la peau saine, la tyrothricine, même à des concentrations considérables, ne provoque aucune irritation.

Nous avons appliqué des solutions très concentrées sur des épidermes de lapins rasés préalablement avec un rasoir en mauvais état pour les traumatiser; nous n'avons trouvé aucune réaction. Monsieur le Docteur REILLY a obtenu des résultats semblables à l'Hôpital Claude Bernard sur un lapin et un cobaye.

Sur les muqueuses, les solutions dont le titre dépasse 0,5 mg. par centimètre cube, sont quelquefois irritantes et peuvent entraîner une petite réaction locale. Aussi en clinique, ne dépas-

se-t-on que rarement la dose de 0,5 mg. par centimètre cube pour les applications sur les muqueuses. Il faut noter, par ailleurs, qu'en application sur les muqueuses, le produit ne passe pas dans la circulation sanguine, ce qui est probablement dû à la grosseur de la molécule qui a une tendance très faible à pénétrer dans les tissus.

Sur les plaies, les solutions usuelles ne sont pas toxiques. GAUSE et BRAZHNIKOVA à Moscou ont fait de nombreuses observations sur des plaies traitées à la gramicidine S, au moyen d'examens microscopiques d'empreintes faites sur des lames de verre par la surface de la plaie. Ils ont trouvé que le développement des fibroblastes et des macrophages est très actif dans les plaies régulièrement et abondamment arrosées par des solutions aqueuses de gramicidine S titrant de 0,5 à 1 mg. par centimètre cube.

DOSAGE

1°. — Unité.

Nous avons vu précédemment que, quelle que soit la souche de bacille employée, le principe actif obtenu après purification à partir d'une culture quelconque, présente toujours, pour un poids donné, des propriétés analogues, en particulier des propriétés antimicrobiennes.

Au cours de nos expériences, nous avons pu, de nombreuses fois, vérifier ce principe : en faisant varier la souche, le milieu de culture, le pH, etc..., on fait varier les rendements, mais pratiquement le produit obtenu présente toujours, à égalité de poids, des propriétés (d'activité antibactérienne, de toxicité et autres) semblables, pour une même quantité pondérale.

Ce fait est assez curieux car les antibiotiques précédents ou suivants dans l'ordre chronologique ne nous ont pas habitués à une même constance; et l'on sait les difficultés qu'il y a d'obtenir des pénicillines ou des streptomycines qui, pour un poids de poudre donné, présentent des caractéristiques antibiotiques analogues.

Toujours est-il que cet heureux phénomène permet d'éviter la recherche et la définition d'une unité biologique, souvent complexes et quelque peu délicates à mettre au point. L'unité pour la tyrothricine est l'unité pondérale : pour les taux que l'on obtient, aussi bien que pour les concentrations utilisées en clinique, on apprécie généralement la tyrothricine en milligrammes ou en millièmes de milligramme : microgrammes (μ g.) ou gamma (γ).

Il nous reste maintenant à étudier les méthodes de dosage,

méthodes qui, soit recherchent directement le poids de produit contenu dans une certaine quantité de milieu (puisque c'est en poids que l'on évalue la tyrothricine) — soit utilisent une propriété du produit dont on connait la variation en fonction du poids, et qui permet d'en tirer ce poids pour une certaine quantité de milieu.

De ces propriétés, deux surtout sont utilisées : l'action antibactérienne (et surtout l'action bactériostatique) et l'action hémolytique.

Nous verrons en même temps dans quels cas il convient d'utiliser l'une plutôt que l'autre de ces méthodes et leurs valeurs respectives.

2°. — Méthodes de dosage de la tyrothricine.

A) *Dosage pondéral.*

C'est là évidemment le dosage le plus simple, surtout lorsqu'il s'agit de doser une solution de tyrothricine pure. Il suffit de prélever une certaine quantité de solution : 10 centimètres cubes par exemple, de précipiter le principe actif par dix volumes de solution de HCl ou de ClNa à 1 %, de filtrer, de sécher le précipité, puis de le peser. C'est ainsi que nous procédons sur les solutions que nous obtenons en fin d'extraction.

Cette méthode a l'avantage d'être très simple mais elle a dans certains cas quelques inconvénients :

1° — Le procédé est assez long, car il faut à la dernière phase dessécher le filtre et le précipité jusqu'à poids constant. Cela demande généralement une nuit à l'étuve. Pour les solutions résultant de l'extraction, cela est de peu d'importance, mais dans certains cas il n'en est pas de même.

Pour effectuer des mesures rapides, nous avons eu l'idée de procéder par néphélométrie : le principe consiste à ajouter à une quantité connue d'une solution à titrer une quantité déterminée d'un liquide amenant la mise en suspension de la tyrothricine dans le mélange final. Suivant les quantités de tyrothricine

contenues dans ce mélange, nous espérions pouvoir établir une courbe donnant les variations de la transmission de la lumière (obtenue par photométrie) en fonction de la quantité de tyrothricine contenue dans une quantité donnée de liquide.

Les résultats obtenus ont confirmé cette théorie, mais jusqu'à un certain point seulement : en effet, suivant les échantillons utilisés, on obtient des variations relativement considérables, autrement dit l'erreur commise par cette méthode est importante, de l'ordre de 25 %. Cette erreur doit être attribuée à la présence des impuretés; ces impuretés, en effet, peu gênantes au point de vue biologique parce que de poids négligeable à côté du produit actif, prennent une grande place au point de vue photométrique parce qu'elles précipitent avec le produit actif et surtout parce qu'elles sont beaucoup plus colorées que celui-ci. La méthode néphélométrique peut donc servir à donner un ordre de grandeur pour les dosages; elle ne peut pas être utilisée pour des dosages précis.

2°. — La méthode pondérale, simple à appliquer à des solutions de tyrothricine pure, devient beaucoup plus délicate et imprécise lorsqu'il s'agit de l'appliquer à des solutions complexes telles que les milieux de culture du Bacillus Brevis.

En effet, si l'on veut, par exemple, connaître la teneur en principe actif d'un milieu d'expérience, on est obligé de prélever une quantité donnée de milieu (100 cm^3 ou 1.000 cm^3) et de procéder à toutes les phases d'extraction. Cela est long et surtout imprécis, car les erreurs commises au cours des manipulations s'ajoutent. C'est surtout dans ces cas que les autres dosages prennent leur valeur.

B) *Dosages par activité antibiotique.*

Nous n'avons pas l'intention de décrire ici tous les types de dosage biologique des substances antibiotiques. Nous voulons seulement montrer l'application à la tyrothricine du principe de ces dosages et nous étendre quelque peu sur ceux que nous avons employés sans approfondir les autres.

Principe général des dosages. — Ils sont basés sur les pro-

priétés antibactériennes que possède la tyrothricine « in vitro ». On choisit celles de ces propriétés qui se manifestent le mieux : inhibition de la croissance d'un germe ou inhibition de la glucose déhydrogénase (mise en évidence par le bleu de méthylène). Il suffit alors de rechercher la plus petite quantité de produit qui, dans des conditions données provoque la réaction recherchée.

Mais il est très difficile d'opérer toujours de façon absolument identique. De nombreux facteurs biologiques (variation de la résistance des souches, de pH, etc...) interviennent, qui entraînent des variations dans les résultats d'une expérience à l'autre. Aussi est-il prudent d'effectuer ces dosages par comparaison avec une solution bien connue du produit, qui sert d'étalon.

1°) *Méthode des dilutions.* — Cette méthode, comparable au dosage Oxford pour la pénicilline, est basée sur la propriété de la tyrothricine d'empêcher certains germes de se développer en bouillon de culture et d'empêcher ainsi le bouillon de se troubler : on ensemence le germe dans des tubes contenant 9 centimètres cubes de bouillon stérile, auxquels on ajoute 1 centimètre cube de suspension stérile de tyrothricine dans l'eau distillée (provenant de la solution à titrer par dilution au 1/10e, 1 100e, 1/1.000, 1 10.000e, 1 100.000e par exemple). On sait d'autre part que le germe ne pousse pas en présence d'une concentration donnée de tyrothricine par cm³, soit 1 μ g. s'il s'agit du pneumocoque. Si, après douze heures d'incubation, le bouillon se trouble dans les deux derniers tubes par exemple et pas dans les trois autres, on en déduit que la concentration 1 μg. se situe entre le troisième et le quatrième tube. En resserrant peu à peu l'échelle, on arrive à déterminer la dilution exacte qui inhibe la poussée du germe : cette dilution correspond à 1 μ g. par centimètre cube d'où on calcule la concentration de la solution initiale.

Les Américains ont le plus souvent utilisé une souche de microcoque isolée du lait ; elle pousse rapidement et elle est facilement inhibée dans sa croissance par de petites quantités de tyrothricine.

Au centre Cabanel nous avons une souche de staphylocoque d'Oxford qui est utilisée pour les dosages de pénicilline. Cette souche est très sensible à l'action de la tyrothricine, sa croissance est bloquée à la concentration de 0,25 à 1 μ g. par centimètre cube de bouillon. Cette technique présente l'avantage de pouvoir être uniformisée, au point de vue matériel, avec les dosages de pénicilline.

Au point de vue pratique, nous procédons de la façon suivante pour une solution de concentration x :

Tout d'abord, recherche de l'ordre de grandeur de x; cette recherche peut se faire par dosage biologique, mais elle est longue. Pour réduire la zone de recherche il y a intérêt, quand c'est possible, à utiliser une méthode rapide et imprécise (néphélométrie) ; soit par exemple : x de l'ordre de 1 mg. par centimètre cube. Il faudra donc diluer environ au 1/3.000e, avec de l'eau distillée, pour tomber dans la zone de recherche.

On fait deux séries de tubes à essai contenant 9 cm^3 de bouillon.

— Dans la première, on ajoute :

Au premier tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/100, soit une dilution totale de 1/1.000.
Au deuxième tube 1 cm^3 de solution x diluée au 1/200, soit une dilution totale de 1/2.000.
Au troisième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/300, soit une dilution totale de 1/3.000.
Au quatrième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/400, soit une dilution totale de 1/4.000.
Au cinquième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/500, soit une dilution totale de 1/5.000.
Au sixième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/800, soit une dilution totale de 1/7.000.
Au septième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/1.000, soit une dilution totale de 1/10.000.
Au huitième tube 1 cm^3 de la solution x diluée au 1/1.500, soit une dilution totale de 1/15.000.
Au neuvième on n'ajoute rien : tube témoin.

— Dans la deuxième, on ajoute des dilutions de la solution étalon contenant par exemple 25 mg. de tyrothricine par centimètre cube. On dilue de manière à ajouter :

Au premier tube 1 cm³ de solution à 20 μ g./cm³, soit une dilution totale de 2 μ g./cm³.
Au deuxième tube 1 cm³ de solution à 15 μ g./cm³, soit une dilution totale de 1,5 μ g./cm³.
Au troisième tube 1 cm³ de solution à 10 μ g./cm³, soit une dilution totale de 1 μ g./cm³.
Au quatrième tube 1 cm³ de solution à 7,5 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,75 μ g./cm³.
Au cinquième tube 1 cm³ de solution à 5 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,5 μ g./cm³.
Au sixième tube 1 cm³ de solution à 3 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,3 μ g./cm³.
Au septième tube 1 cm³ de solution à 2 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,2 μ g./cm³.
Au huitième tube 1 cm³ de solution à 1 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,1 μ g./cm³.
Au neuvième tube 1 cm³ de solution à 0,5 μ g./cm³, soit une dilution totale de 0,05 μ g./cm³.
Au dixième tube on n'ajoute rien : tube témoin.

On place les tubes à l'étuve à 37° et on lit 12 heures après.

Supposons que dans la première série les quatre premiers tubes soient clairs et les autres troubles,

que dans la deuxième série les six premiers tubes soient clairs et les autres troubles,

le quatrième tube de la série 1 et le sixième tube de la série 2 ont la même concentration en principe actif, soit 0,3 μ g. par centimètre cube. Comme la solution x est diluée au 1/4.000 dans le quatrième tube x 0,3 μ g. X 4.000 soit 1,2 mg. par centimètre cube.

Discussion du dosage. — Le principe de ce dosage est évidemment satisfaisant, car il mesure l'activité antibiotique réelle des solutions. De plus, il est applicable aux solutions

les plus variées, y compris les jus de cultures de Bacillus Brevis.

Il présente néanmoins un certain nombre d'inconvénients :

a) comme on part en général de solutions alcooliques inconnues, il faut que la dilution soit suffisante pour éliminer les effets de l'alcool sur la croissance du germe. Si on partait en effet de solutions à 0,01 mg. par exemple, il faudrait diluer au $1/10^e$ pour tomber dans la zone d'action. Ajouter au bouillon un centimètre cube de solution origine au $1/10^e$ reviendrait à ajouter un centimètre cube d'alcool à 9 ou 10 %. L'effet de l'antibiotique risquerait d'être masqué par celui de l'alcool.

b) Nous avons vu qu'en diluant les solutions alcooliques dans l'eau distillée on obtient des suspensions opalescentes. Si ces suspensions sont trop concentrées, l'opalescence gênera la lecture : c'est ce qui se produit au-dessus de 0,1 mg./cm^3, d'où la nécessité d'employer un germe sensible à des concentrations faibles.

c) Un certain nombre de points techniques sont un peu délicats : c'est le cas du bouillon et de l'ensemencement.

En effet, le bouillon utilisé au Centre est à base de bouillon de viande amené à pH 7,5 par la soude. D'où des variations dans les divers lots de viande, dans la composition exacte du milieu et dans le pH, variations qui entraînent des modes différents de croissance des germes et des résistances différentes. Par ailleurs, il est difficile de tamponner, car les tampons ordinaires entraînent fréquemment la précipitation du principe actif.

L'ensemencement est fait, comme nous l'avons dit, avec une souche de staphylocoque : 2 gouttes d'une culture de 12 heures sur bouillon sont diluées avec 10 cm^3 d'eau distillée : l'inoculation est faite avec une goutte de cette dilution.

Enfin il faut opérer avec une grande asepsie car toute contamination trouble le milieu et rend toute lecture impossible.

d) La méthode n'est pas très précise et dépend beaucoup de l'échelle des dilutions.

c) La méthode est longue puisqu'elle nécessite, outre les diverses manipulations de dilution et d'ensemencement, le séjour des tubes pendant 12 heures à l'étuve à 37°.

C'est pour cela que les Américains ont utilisé une autre méthode :

2°) *Dosage par inhibition de la glucose déhydrogénase.*

Elle est basée sur la propriété (vue à l'étude « in vitro ») de la tyrothricine de bloquer la glucose déhydrogénase des cultures des germes sensibles. Cette propriété est mise en évidence par le bleu de méthylène.

On utilise des suspensions microbiennes contenant approximativement 10^9 cellules au centimètre cube. On en met 3 cm^3 dans des tubes à essai et on ajoute des dilutions croissantes de la solution à titrer.

On met à l'étuve à 37° pendant 3 heures.

Puis on ajoute 1 cm^3 de solution de bleu de méthylène à 2/1.000 et 1 cm^3 de solution de glucose à 10 %. On scelle les mélanges que l'on place à l'étuve à 37°. On observe le taux de réduction colorimétrique par rapport à des tubes étalons.

Cette méthode, que nous n'avons pas utilisée, a l'avantage d'être plus rapide et facile à lire. Mais elle nécessite des suspensions microbiennes contenant des quantités connues d'une part, et de nombreuses manipulations, d'où risque de contaminations d'autre part.

Toutes les autres méthodes de dosage sont analogues à celles-ci et n'en diffèrent que par de petits détails techniques.

Nous avons essayé d'utiliser pour la tyrothricine la méthode de HEATLEY qui est utilisée pour la pénicilline. Cette méthode est basée sur une expérience de FLEMING qui constata, après avoir creusé une petite rigole dans une plaque d'agar ensemencé de germes sensibles à la pénicilline et rempli d'une solution gélosée de pénicilline, que les colonies microbiennes situées près de la rigole ne croissaient pas, alors que les plus éloignées continuaient de croître. Les résultats avec la tyrothricine sont

absolument nuls : il n'y a aucune zone d'inhibition autour de la rigole. Il est probable qu'on peut attribuer cet échec à la grosseur de la molécule du produit, ce qui l'empêche de diffuser.

C) *Dosage par activité hémolytique.*

C'est DIMICK qui eut l'idée d'utiliser les propriétés hémolytiques de la tyrothricine pour doser ce produit dans les solutions.

Il parvint en effet à mesurer le degré d'hémolyse des globules rouges due à la tyrothricine, et à établir une relation entre l'activité antibactérienne et l'hémolyse, ce qui permet de doser la tyrothricine dans des solutions ou dans des milieux complexes.

Pour cela, DIMICK prépare une solution standard de tyrothricine et une suspension de globules rouges de rats.

Pour mesurer le degré d'hémolyse, il utilise un colorimètre photo-électrique avec un filtre qui permet de transmettre un maximum de lumière avec le sang hémolysé et donne un maximum de changement avant et après l'hémolyse.

Après ajustement de l'échelle du colorimètre par des lectures faites avec la suspension de globules, il place dans la cuve de son colorimètre une quantité de sang donnée et une quantité de tyrothricine variable, puis il effectue des lectures à 40, 60, 90, 120 et 180 secondes. Les valeurs trouvées sont soustraites de la lecture initiale et reportées sur une courbe : elles représentent le logarithme du changement de transmission de la lumière (ΔS). En portant log. ΔS en ordonnée et le temps en abcisse pour des concentrations variables de tyrothricine on obtient une famille de courbes (fig. 5).

On peut à partir de cette famille de courbes tirer une courbe étalon qui relie la concentration de tyrothricine avec le changement de transmission de la lumière.

Les courbes construites avec de nombreux échantillons de sang obtenus de différents rats, ont présenté des pentes semblables. Ceci est également vrai pour des échantillons du même stock de globules pris à des jours différents.

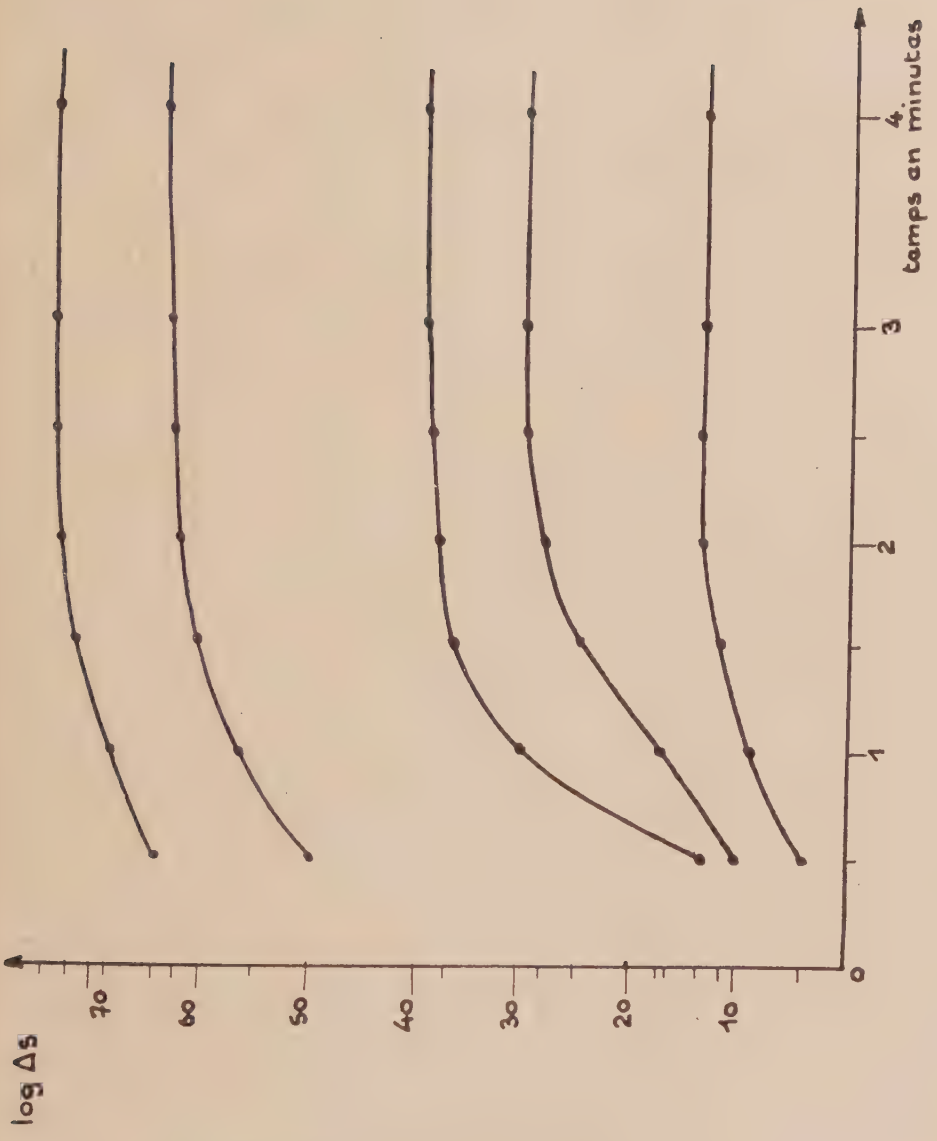

Figure 5 (Dimick)

Courbes d'hémolyse des hématies de rats, obtenues en faisant varier la quantité de tyrothricine ajoutée à une quantité donnée de suspension de globules de rat (chaque courbe correspond à une quantité donnée de tyrothricine).

Cette méthode, élégante et rapide, serait pour DIMICK précise à 5 % près, et sensible à des quantités de tyrothricine très faibles.

Nous avons expérimenté cette méthode mais nous n'avons pas obtenu, tant s'en faut, des résultats aussi brillants que les résultats américains.

Sur un certain nombre de points notre mode d'expérimentation à différé de celui de DIMICK : d'abord sur le sang où, pour des questions d'élevages, nous avons dû remplacer le sang de rat par celui de lapin; ensuite sur l'appareillage et en particulier sur le photomètre.

Nos résultats ont été sensiblement différents, en ce sens que DIMICK obtenait une hémolyse partielle, et, suivant la quantité de produit ajoutée, plus ou moins marquée alors que nous avons toujours obtenu une hémolyse totale plus ou moins longue à s'établir suivant la quantité de produit ajoutée.

Nous avons essayé d'établir des familles de courbes en utilisant cette variation de temps nécessaire à établir une hémolyse complète : nous n'avons pu établir de famille étalon, des changements considérables survenant d'un jour à l'autre.

Cette méthode nous sert dans une certaine mesure, comme la méthode néphélométrique, à « situer » grossièrement une solution en la comparant à une solution connue (en l'encadrant par une solution plus faible et une solution plus forte, et en resserrant peu à peu l'échelle) mais la précision et la rapidité de ces opérations ne sont en rien comparables à celles de DIMICK.

MODE D'ACTION
DE LA TYROTHRICINE ET DE SES COMPOSANTS

Il est toujours assez délicat de préciser le mode d'action des substances antibiotiques. Il en est pour la tyrothricine comme pour ses prédécesseurs.

	Tyrothricine	Gramicidine	Tyrocidine	Oléate de sodium	Détergent synthétique
Solution ClNa 0,9 %	26	18	26	40	41
Sérum à 1 % dans ClNa à 0,9 %	21	14	20	31	31
» à 5 % dans » »	18	10	19	18	24
» à 10 % dans » »	17	8	17	10	17
» à 20 % dans » »	16	4	14	4	10
» à 40 % dans » »	17	3	18	1	6
Solution de Tyrode	27	20	28	19	40
Sérum à 1 % dans sol. de Tyrode	21	12	19	13	32
» à 5 % dans » »	19	6	17	9	24
» à 10 % dans » »	16	4	15	8	16
» à 20 % dans » »	15	4	15	4	10

TABLEAU 11 (HERREL).

Effet du sérum de lapin sur la diminution de tension superficielle causée par des solutions au 1/5.000 de tyrothricine, gramicidine, tyrocidine, oléate de sodium et un détergent synthétique.

Les chiffres indiquent en dynes les différences entre la tension superficielle de la solution et celle de la même solution à laquelle on a ajouté les différents produits.

Lectures à 10 minutes — Température 25° C — Solution à pH 7,6

Ce sont HERREL et Dorothy HEILMAN qui ont les premiers étudié cette question (25). Il ressort tout d'abord de leurs travaux que la tyrothricine et ses composants abaissent la tension superficielle des solutions aqueuses, et que c'est la gramicidine qui est la plus active à cet égard. De plus, cette propriété est grandement augmentée par l'addition de certains solvants organiques tels que la glycérine.

Par ailleurs, en partant du fait que le sérum sanguin diminue le pouvoir, qu'ont certains détergents, d'abaisser la tension superficielle, HERREL et HEILMAN ont eu l'idée de rechercher l'effet du sérum sanguin sur cette propriété de la tyrothricine.

Ces variations de tension superficielle dues à un certain nombre de produits sont résumées dans le tableau 11.

Il ressort de ce tableau :

1°) que l'effet inhibiteur de quantités croissantes de sérum est à peu près parallèle pour la gramicidine et pour le détergent synthétique;

2°) que la tyrocidine conserve un pouvoir d'abaissement de la tension superficielle assez considérable, même en présence de quantités importantes de sérum;

3°) que la tyrothricine en présence de sérum conserve un pouvoir d'abaissement de la tension superficielle plus important que ne pourrait le laisser présager sa teneur en gramicidine.

HERREL et HEILMAN montrèrent encore que les propriétés qu'ont la gramicidine et la tyrocidine d'abaisser la tension superficielle, ne sont pas proportionnelles à leurs actions antibactériennes respectives.

D'autre part, le fait de chauffer le produit (gramicidine) à de très hautes températures diminue puis détruit les propriétés antibactériennes, alors qu'il n'altère pas sa propriété d'abaisser la tension superficielle.

Nous avons vu la spécificité que possèdent les différents produits, et en particulier la gramicidine, dans l'action antibactérienne : une très faible concentration dans le milieu de

culture suffit à inhiber la croissance du pneumocoque et du streptocoque pyogène. Le staphylocoque demande une concentration plus importante, et les bactéries Gram — ne sont pas sensibles. On a retrouvé une sélectivité antibactérienne du même ordre avec des détergents comme les savons d'acides gras non saturés. Lamar, Averu, Walker, Eggerth, Bayliss et Halvorson ont montré que les détergents synthétiques anioniques permettent la même sélectivité dans leur effet inhibiteur sur le métabolisme de nombreuses bactéries.

Herrel et Heilman, dans une nouvelle phase de leurs travaux, constatèrent qu'une concentration considérable (10 mg. par cm^3) d'acide para-aminobenzoïque n'empêchait pas l'action de la gramicidine sur les pneumocoques. Ils trouvèrent par contre que certains détergents cationiques inactivaient le produit.

Ce résultat les confirma dans leur idée de rapprocher la gramicidine des détergents anioniques.

Un peu plus tard, Dubos et Hotchkiss reprirent la question. Ils arrivèrent à l'idée que la tyrocidine agit à la manière des détergents, qui sont considérés comme des poisons généraux du protoplasme.

Par contre, ils pensent que la gramicidine peut difficilement être considérée comme un poison protoplasmique. Son action semble être plus complexe, avec blocage de certaines réactions métaboliques (comme nous l'avons vu dans un chapitre précédent pour la glucose déhydrogénase).

En résumé, le mode d'action de la gramicidine et celui de la tyrocidine sont quelque peu différents. Il semble bien néanmoins qu'il y ait, à des degrés divers, interférence d'éléments purement physiques (tension superficielle) avec les éléments biochimiques (oxydoréduction).

TROISIÈME PARTIE

RESULTATS OBTENUS EN CLINIQUE AVEC LA TYROTHRICINE

Il ressort de ce qui a été dit dans les chapitres précédents que la tyrothricine (seule employée en clinique, car si la gramicidine est plus active, la tyrocidine renforce son action) a des indications bien précises : les infections à germe Gram + que les applications locales permettent d'atteindre puisque la voie parentérale est toxique et la voie orale inefficace. Enfin, vue la faible diffusibilité du produit (à cause de sa grosse molécule), il est nécessaire qu'il soit en contact direct avec le foyer d'infection.

Nous allons donc, dans cette troisième partie, étudier d'abord les préparations et le mode d'emploi du produit, puis successivement les différents domaines cliniques où la tyrothricine est susceptible de jouer un rôle. Nous donnerons dans chaque cas un résumé des résultats qui ont été obtenus à l'étranger et les résultats qui ont été obtenus avec notre produit.

PREPARATIONS DE TYROTHRICINE UTILISEES EN CLINIQUE ET MODE D'EMPLOI

Nous avons vu que les solutions alcooliques du produit sont stables presque indéfiniment à température ordinaire. C'est pour cette raison que la tyrothricine est présentée sous forme de solutions alcooliques de titre quelconque, en général de 15 à 50 mg. par centimètre cube (dans de l'alcool à 95°).

Cette solution-mère est quelquefois utilisée en clinique, mais le plus souvent elle est diluée avant l'utilisation. Nous allons maintenant voir les différents modes de préparation à partir de cette solution alcoolique.

1°) Solution alcoolique mère. — Cette solution est quelquefois employée en dermatologie (en badigeonnages). On applique ainsi en une fois de 1 à 100 mg. sur la zone atteinte. On laisse sécher la solution, l'alcool s'évapore et il reste une fine pellicule de produit sur la région traitée. On peut à ce moment appliquer un pansement stérile sec pour protéger l'ensemble.

2°) Solution alcoolique diluée. — Certains épidermes supportant mal des solutions concentrées, on peut quelque peu diluer la solution mère avec de l'alcool à 70°, de manière à obtenir une solution titrant de 1 à 10 mg. par centimètre cube.

3°) Suspensions aqueuses. — Nous avons vu que la solution alcoolique ajoutée à de l'eau distillée forme une suspension homogène et stable à la température ordinaire. Par contre, avec de l'eau contenant des électrolytes, le produit actif précipite. Les suspensions aqueuses doivent donc être faites avec de l'eau distillée, ou si l'on préfère, avec de l'eau glucosée. Mais en sus-

persion aqueuse, le produit ne conserve son action antibactérienne que pendant une période de 6 à 8 jours (comme nous l'avons vu précédemment).

On utilise ainsi des suspensions titrant :

0.5 mg. par cm³ (chirurgie — dermatologie — gynécologie) ;
0.3 mg. par cm³ (oto-rhino-laryngologie) ;
0.2 mg. par cm³ (ophtalmologie) ;

en irrigations, pulvérisations, pansements humides, lavages, etc..., etc...

4°) Préparations sèches à la poudre boriquée que l'on prépare ainsi : 20 cm³ de solution alcoolique à 25 mg. cm³ (soit 500 mg. de produit) sont ajoutés à 100 gr. d'acide borique sec pulvérisé. Le mélange est effectué dans un mortier, et on laisse sécher de manière à faire évaporer l'alcool : cette préparation sèche contenant 500 mg. de produit pour 100 g. d'acide borique est utilisée en insufflations, en particulier dans les voies génitales basses de la femme.

5°) Suspensions huileuses. — Des suspensions huileuses peuvent être préparées extemporanément, en agitant des doses convenables de solutions alcooliques mère et d'huile (généralement de paraffine) de manière à obtenir des suspensions titrant 0.5 mg. à 1 mg. par centimètre cube ; pour maintenir les émulsions on peut ajouter un peu de laurylsulfonate ou de naphtène sulfonate de sodium. Ces suspensions sont utilisées dans certains ulcères et en art vétérinaire.

Il est bien évident que ces quelques indications ne sont qu'un schéma général de l'emploi de la tyrothricine, et que bien souvent sont apportées des modifications selon les nécessités de chaque cas.

LA TYROTHRICINE EN CHIRURGIE

I. — SUPPURATIONS DES TISSUS MOUS ULCERES ET BLESSURES INFECTEES

1°) Résultats américains.

C'est dans des cas d'ulcères que fut tout d'abord employée la tyrothricine. Dès les premières expériences faites à la clinique Mayo par Rammelkamp (44), il fut évident que la tyrothricine avait une valeur indiscutable dans le traitement local de certains ulcères et de blessures infectées.

Rammelkamp utilisait une solution alcoolique concentrée à 50 mg. de tyrothricine pour 1 centimètre cube d'alcool à 95°. Il appliquait directement cette solution sur la lésion, la quantité de produit appliquée variant de 1 à 100 mg. Puis il laissait sécher la solution alcoolique, ce qui formait une mince pellicule blanc jaunâtre. Des pansements secs étaient ensuite appliqués. Des prélèvements étaient faits après chaque application de la substance bactéricide.

Les résultats résumant les caractères essentiels de 12 cas sont donnés dans le tableau 12. De la lecture de ce tableau on peut tout de suite noter que l'application du produit sur des ulcères infectés par des bactéries Gram — a été sans effet, ce qui correspond aux résultats trouvés « in vitro » (cas II).

De plus, les lésions d'où avaient été isolées des bactéries Gram + ainsi que des bactéries Gram — n'ont pas réagi à la thérapeutique par la tyrothricine. En effet, les cultures faites avec des germes provenant de ces lésions ont continué à montrer des organismes Gram + et des organismes Gram — (ma-

lade n° 7 lésion a, et malade n° 12). RAMMELKAMP attribue, dans ces infections mixtes, l'insuccès du traitement vis-à-vis des germes Gram + à la production d'une substance inhibitrice par les bactéries Gram —. DUBOS a observé que le filtrat des cultures de bactéries Gram — inhibe l'action de la tyrothricine « in vitro ».

Pour les malades n° 1, n° 2 (lésions a et b), n° 3, 4, 5, 6, 7 (lésions b et c), n° 8, 9 et 10, soient 12 ulcères, la stérilisation était obtenue rapidement après le début du traitement. Dans certains cas la guérison des lésions locales a été rapide. Le résultat le plus brillant fut celui du malade n° 2 (2 petits ulcères de la cheville datant de six semaines). La guérison fut obtenue après l'application de petites quantités de tyrothricine. (Lors de l'isolement de la souche et des tests faits « in vitro » avec cette souche de staphylocoques, RAMMELKAMP avait remarqué qu'elle était particulièrement sensible à l'action de la tyrothricine.)

La guérison fut beaucoup plus lente chez les malades ayant des ulcères situés au niveau de régions mal irriguées (cas n° 1, 3, 4, 5, 6 et 10) ou sur des tissus très endommagés (cas n° 7).

Le cas 1 était une femme de 57 ans ayant un ulcère à la partie inférieure de la jambe depuis quatre ans. Varices au niveau des deux jambes. Traitements les plus divers. La saphène avait été ligaturée. Aucun de ces traitements n'avait changé la taille de l'ulcère. Les cultures de germes avaient montré du staphylocoque doré et du streptocoque hémolytique. Vingt-quatre heures après la première application de tyrothricine le streptocoque avait disparu et vingt-quatre heures après la deuxième application la plaie était stérile. La guérison survint 17 jours après le début du traitement et 10 mois après, il n'y avait pas eu de récidive.

Le cas 10 était un homme de 65 ans, porteur d'un ulcère de la jambe droite, vieux de plusieurs années avec varices datant de plus de 20 ans. Les diverses formes de traitement avaient échoué. La tyrothricine appliquée, le résultat fut d'abord satisfaisant, l'ulcère étant stérilisé et sa taille diminuant. Quand les applications journalières furent interrompues, l'ulcère s'est

Malade N°	Sexe	Age. Années	Diagnostic	Grandeur cm.	Durée	Organismes	Tyrothricine administrée mg.		Jours de traitement	Résultats bactériol. de la lésion	Résultats
							Doses	Total			
1	♀	57	ulc. de stase	1,5	4 ans	Sta. aureus Stre. hémol	10-25	210	16	stérile	Guéri en 17 jours
2	♀	12	ulc. de la jambe lésion a	1,0	6 sem.	Sta. aureus	10	20	2	stérile	résultats spectaculaires
			lésion b	1,0	6 sem.	Sta. aureus	5-10	15	2	stérile	Guéri en 4 jours, les ulcères ont guéri par application loc. usuelles.
3	♀	47	ulc. de stase	20 p. 1,75	1 an	Sta. aureus	1-50	131	16	stérile après 3 jours	Excellent résultat
4	♂	63	»	2,5 p. 1,5	10 ans	entéroc.	1-40	502	38	stérile	Guéri lentement
5	♂	47	»	2,0 p. 2,0	1 ans	Stre. hémol Sta. aureus	5-20	25	2	»	Guéri en 4 jours
6	♂	43	»	3,5 p. 1,5	3 ans	Sta. aureus	15-50	295	16	»	Grandeur 2.0 par 0,9 cc. de la suppuration
				11, 0 p. 3,0	3 ans		15-25	265	16	»	Guéri lentement. Grandeur de la suppuration 6.0 x 1.5

TABLEAU 12

La tyrothricine dans la thérapeutique des ulcères

Malade N°	Sexe	Age. Années	Diagnostic	Grandeur en	Durée	Organisme	Tyrothricine administrée mg. Doses	Total	Jours de traitement	Résultats bacté riol. de la lésion	Résultats
7	♂	58	ulc. second. de la jambe brûlée par rayons X lésion a		3 ans	Sta. aureus Proteus Stre. hémol	50-100	1200	17	17 non stéri.	N'a pas guéri par une thérap. antér. par un antiseptique contenant de l'huile de coco + sulfamide.
			lésion b	2,8 p. 3,5	3 ans	Sta. aureus Stre. hémol	10-50	525	17	stérile	N'a pas guéri
			lésion c	2,8 p. 2,6	3 ans	Sta. aureus Stre. hémol.	10-50	525	17	stérile	Guéri
8	♀	16	ulc. du bras	2,5	2 sem.	Sta. aureus	5-20	109	9	stérile	Guéri, récidive
9	♀	16	ulc. de la jambe	3,3	1 an ½	Sta. aureus	5-60	1648	55	»	N'a pas guéri
10	♂	65	ulc. de stase	9,0 p. 9,0	15 ans	Sta. aureus	5-100	17485		stérile, plus tard sans effet	Guéri rapidement au début, plus tard stérilisation difficile.
11	♀	37	ulc. de stase	3,5	1 an	B. coli	20-50	200	7	sans change.	sans effets
12	♂	74	ulc. fessier	6,5	2 sem.	B. coli Sta. aureus	2-30	300	5	non stérilisé	sans effets

TABLEAU 12 (suite)

La tyrothricine dans la thérapeutique des ulcères

mis de nouveau à grandir et les cultures ont montré le retour du staphylocoque doré. Mais le germe était devenu beaucoup plus résistant à la tyrothricine.

Francis (47) a publié des résultats excellents dans le traitement de blessures infectées; en particulier, un cas résistant à l'action des sulfamides et d'où avait été isolé du streptocoque hémolytique fut rapidement guéri par des applications locales de tyrothricine.

Rankin (48) en 1944, a attiré l'attention sur la propriété que possède la tyrothricine de stimuler les tissus. L'auteur a traité avec ce produit six malades atteints d'ulcères de jambe. Il a obtenu des résultats excellents dans cinq cas et nuls dans le sixième. Il a constaté que la tyrothricine ne provoque aucun symptôme toxique, ni aucune douleur en application locale. Dans les cinq cas heureux la tyrothricine semblait nettement stimuler les tissus et hâter la cicatrisation une fois la stérilisation de la plaie obtenue.

La question fut reprise en 1944 par Kvale, Barker et Herrell (49) qui publièrent les résultats obtenus par eux avec la tyrothricine dans le traitement des ulcères des extrémités accompagnant des troubles circulatoires.

Ces auteurs, contrairement à Rammelkamp qui appliquait directement la solution alcoolique, utilisèrent la suspension aqueuse à 0,5 mg. par centimètre cube, en pansements humides. Pour les petits ulcères ils appliquèrent un tampon de coton stérile dépassant les bords de l'ulcère et saturé de la suspension. Au moyen d'un compte-goutte, le tampon était imbibé toutes les heures. Ces pansements étaient changés toutes les 24 heures et plus souvent en cas de gros suintement de la lésion.

Pour les gros ulcères, les tampons étaient imbibés avant leur application et dépassaient très légèrement les bords de la lésion. Le tout était recouvert de soie huilée. Si des particules de coton adhéraient à la plaie, elles étaient soigneusement enlevées lors du pansement suivant.

Cette thérapeutique fut appliquée dans trois formes d'ulcères :

a) « *Ulcères avec stase veineuse* ».

Les auteurs publient 15 cas : 8 excellents résultats, et 7 assez bons.

b) « *Ulcères ischémiques associés à de la thromboangéite oblitérante* ».

12 cas sont publiés :

4 résultats excellents.
3 résultats assez bons.
5 échecs.

c) « *Ulcères ischémiques avec artériosclérose oblitérante* ».

15 cas sont publiés :

7 résultats excellents.
3 résultats assez bons.
5 échecs.

C'est donc de loin la première série d'observations qui donne les résultats les plus satisfaisants.

Certes, dans les cas favorables d'ulcères de jambe il est toujours permis de se demander si, survenant au bon moment, le traitement le plus banal ne serait pas suffisant et n'aurait pas une action également efficace.

Quoi qu'il en soit les résultats américains sont dans l'ensemble extrêmement encourageants.

2°) Résultats russes obtenus avec la gramicidine S.

Gause, Brazhnikova et Serguiev ont publié les résultats obtenus par l'utilisation de gramicidine « S » dans 300 cas d'infections superficielles, comprenant des plaies par coups de feu, des tissus mous nécrosés, des brûlures graves, des abcès de la paroi abdominale, etc...

Ces auteurs utilisent en général les suspensions aqueuses titrant 0,4 mg. par centimètre cube. Les suspensions aqueuses ont été appliquées quotidiennement et abondamment pendant un temps suffisant pour que les germes disparaissent de la plaie.

La plupart des observations cliniques étaient accompagnées

d'examens bactériologiques répétés, de l'étude de la phagocytose au niveau de la plaie ainsi que des mesures de l'activité phagocytaire des leucocytes dans le sang périphérique. La disparition des tissus nécrosés, l'apparition des granulations, ainsi que la cicatrisation ont été très rapides. De plus, la gramicidine « S » semble avoir une propriété que n'a pas la tyrothricine : elle soulage la douleur.

Voici à titre d'exemple, deux observations de SERGUIEV :

— Homme de 28 ans. Brûlures graves de l'abdomen, des deux hanches et autour des genoux. Traitement par les méthodes habituelles (non précisées), sans succès pendant deux mois. Température : 39° C. Grande suppuration des tissus brûlés. Présence de staphylocoque doré dans le pus. Début du traitement à la gramicidine le 8 juin 1943, continué quotidiennement. Le 12 juin la température est normale, amélioration remarquable dans l'état du malade, quelques bactéries à peine dans l'exsudat de la plaie. Le 22 juin toute la surface brûlée était recouverte de tissu de granulation frais, le tiers en était cicatrisé.

— Homme de 22 ans, atteint de nombreuses plaies graves des mains, jambes, face et tête par éclats de mine. Perte de l'œil gauche. Température : 38°-39°. Présence de staphylocoque doré et de B. Proteus dans le pus. Après 2 jours de traitement par la gramicidine « S » l'aspect des plaies était très amélioré, la suppuration diminuée et les œdèmes de la face et de la paupière droite diminués au point que le blessé peut se servir de son œil droit. Après neuf jours de traitement son état était entièrement satisfaisant.

3°) RÉSULTATS OBTENUS AVEC LA TYROTHRICINE QUE NOUS AVONS PRODUITE.

OBSERVATION N° 1

M. B..., 10 ans.

Ulcère creusant de la jambe gauche ayant débuté le 16 novembre.

Pansements à la pommade à la pénicilline pendant 10 jours sans résultat, l'ulcère gagnant et atteignant la taille d'une pièce de dix francs.

Adénopathies inguinales.

Un prélèvement montre la présence de staphylocoques dans le pus (28 novembre).

La culture montre que la souche de staphylocoques est particulièrement sensible à la tyrothricine (inhibée par 3 μ g. par cm3).

Le 29 novembre application de pansements humides avec une suspension de tyrothricine à 1 mg. par centimètre cube.

Le 30 novembre grosse amélioration — même traitement.

Le 1er décembre la plaie est complètement nettoyée et bourgeonnante. Elle a nettement diminué de surface — même traitement.

Le 2 décembre la plaie est fermée par une croûte.

Le 3 décembre disparition des adénopathies.

Le 4 décembre la plaie peut être considérée comme cicatrisée.

Conclusion. — L'action de la tyrothricine a été particulièrement brillante sur une lésion où la pénicilline locale avait été inactive.

OBSERVATION N° 2

Mme P..., 58 ans.

Ulcère variqueux de la jambe droite ayant débuté en juillet 1946.

Vu le 20 décembre 1946 : ulcère de la taille d'une pièce de deux francs. Pus à staphylocoque et streptocoque.

Traité sans succès par les thérapeutiques les plus variées.

Le 20 décembre on institue un traitement par des pansements humides à la tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Pendant les premiers jours le résultat est spectaculaire.

Le 26 décembre l'ulcère est réduit à la taille d'un pois.

L'écoulement est stérile.

Les dix jours suivants : état stationnaire.

Puis l'ulcère se ferme complètement mais l'épidermisation n'est pas très bonne.

Un mois après, pas de récidive.

Conclusion. — Résultat conforme en tous points aux résultats américains. Malheureusement les risques de rechute sont

grands dans cette sorte d'ulcères avec la possibilité de développement de germes résistants cette fois à l'action du produit.

OBSERVATION N° 3

Mme T..., 23 ans.

Quatre brûlures du 1/3 inférieur de la jambe gauche le 14 décembre.

Traitée par le mercurochrome.

Puis par de la crème au septoplix.

Début de suppuration le 19 décembre 1946. La jambe est légèrement œdématiée et assez douloureuse. La plaie suinte. Température subfébrile. Lymphangite.

A l'examen du suintement : présence de staphylocoques.

Le 23 décembre, pansement humide à la tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3). Pansement renouvelé deux fois par jour.

Le lendemain grosse amélioration. Température normale. Disparition de la douleur et de la lymphangite.

Le 27 décembre la plaie est propre.

Le traitement est poursuivi jusqu'à cicatrisation qui survient pour trois des plaies les premiers jours de janvier.

La dernière plaie (sur la malléole externe) ne cicatrise que quelques jours plus tard.

Conclusion. — Résultat rapide avec formation d'une très belle cicatrice invisible un mois plus tard.

OBSERVATION N° 4

M. T..., 57 ans.

Brûlure de la face antérieure de la jambe droite et du dos de la main droite, survenue le 29 décembre 1946.

Traité par des pansements à l'huile goménolée et au tulle gras.

Le 3 janvier suppuration des deux plaies. Présence de staphylocoques dans le pus.

Le 5 janvier institution d'un traitement à la tyrothricine : pansements humides (suspension à 0,5 mg. par cm3) renouvelés deux fois par jour.

Le 7 janvier grosse amélioration. Plaie entièrement nettoyée.

La main est cicatrisée complètement le 14 janvier.

La jambe le 20 janvier.

Conclusion. — Résultat analogue au cas précédent. Formation d'une cicatrice invisible quinze jours plus tard.

OBSERVATION N° 5

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. de B..., 35 ans.

Le 23 décembre 1946 furoncle de la lèvre supérieure.

Traité à la pommade à l'exoseptoplix et au nitrate d'argent.

Le 28 décembre évolution du furoncle en anthrax.

Pénicilline en injection périfocale.

Traitement quotidien jusqu'au 1er janvier 1947.

Le 3 janvier le malade est hospitalisé.

Présente un volumineux anthrax intéressant la partie médiane de la lèvre supérieure.

Œdème limité.

Bon état général — Température 38°.

On institue un traitement à la pénicilline par voie générale 8 fois 300.000 unités.

Pulvérisations au Lucas Championnière.

Pansements humides à la tyrothricine, suspension à 0,5 mg. par cm3) renouvelé trois fois par jour.

L'état local reste stationnaire pendant plusieurs jours.

Le 8 janvier élimination de nombreux bourbillons.

A partir de ce moment évolution rapide vers la guérison.

Le malade quitte le service le 10 janvier 1947. Persistance d'une légère tuméfaction rougeâtre de la lèvre supérieure.

Chute des poils.

Le 13 janvier la tuméfaction a presque disparu.

Conclusion. — La tyrothricine utilisée pendant quatre jours ne paraît pas avoir influencé l'évolution de l'anthrax. La pénicilline par voie générale n'a pas semblé avoir non plus une grande efficacité. Il est probable que l'anthrax était déjà trop évolué, les antibiotiques ne pouvant agir que peu sur une destruction tissulaire avancée.

OBSERVATION N° 6

M. P..., 37 ans.

Volumineux anthrax de la partie supérieure du dos.

Incision en croix au thermocautère le 28 décembre 1946.

Formation d'un abcès sous-anthracoïde incisé le 4 janvier 1947.

Traitement à la pénicilline : 2 fois 200.000 unités sans résultat.

Le 10 janvier nous voyons ce malade qui présente une suppuration abondante.

Pansements humides à la tyrothricine deux fois par jour (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le 11 janvier : écoulement un peu moins abondant.

Le 12 janvier : écoulement très abondant.

Le 13 janvier : écoulement très abondant.

La culture du germe révèle un staphylocoque entièrement résistant à l'action de la tyrothricine.

Le traitement s'avère donc inutile et est abandonné.

Conclusion. — Nous sommes là en présence d'un des cas typiques, décrits par RAMMELKAMP, de staphylocoque absolument résistant au produit.

Par ailleurs, notre produit a été utilisé à l'Hôpital de Diégo-Suarez par Monsieur le Médecin-Lieutenant-Colonel MONFORT dans plusieurs cas d'ulcères phagédéniques.

Le colonel MONFORT a utilisé la tyrothricine à la période aiguë et à la période chronique de ces ulcères.

— A la période aiguë le résultat est absolument nul.

— A la période chronique par contre, le résultat est très brillant. Les plaies sont stérilisées presque immédiatement avec tendance très rapide à la cicatrisation.

Ce phénomène plutôt paradoxal s'explique assez bien par la bactériologie de ces ulcères tropicaux : en effet, à la phase aiguë, les germes trouvés dans le pus de ces lésions consistent surtout en un spirochète et un bacille Gram —, germes sur lesquels la tyrothricine n'a pas d'action.

Puis, peu à peu, se développent dans ces plaies une flore secondaire, surtout composée de pyogènes banaux qui éliminent

peu à peu les germes précédents. Et c'est là, sur ces germes banaux, en majorité Gram +, que la tyrothricine trouve un excellent terrain d'action.

Ceci est particulièrement intéressant, d'autant plus que la tyrothricine, thermostable, peut être aisément manipulée dans les régions chaudes.

Résumé et critique. — Ces observations, bien qu'insuffisantes en nombre, permettent néanmoins de préciser quelques points :

1°. — Indolence pratiquement absolue du produit sur des lésions externes des tissus mous, ulcères et brûlures.

2°. — Le produit semble nettement favoriser le bourgeonnement des plaies et ne semble pas gêner l'épidermisation. L'observation 1, en particulier, est nette à cet égard.

Evidemment, dans le cas d'ulcères de jambe, on peut toujours se demander si, à un certain moment, la seule variation de traitement ne suffit pas pour amener la guérison. Dans le cas n° 2 on peut se demander si des lavages au sérum physiologique n'auraient pas, à la même période, amené des résultats analogues.

Néanmoins l'évolution du cas 2 a été particulièrement rapide et favorable et semble bien pouvoir être mise sur le compte de la tyrothricine, résultat qui correspond aux résultats américains.

Les cas d'ulcères tropicaux sont d'ailleurs analogues.

Il est nécessaire d'avoir un grand nombre d'observations pour déterminer le rôle exact de la tyrothricine sur ces divers ulcères.

II. — SOINS PRE ET POST-OPERATOIRES

1°. — Les Américains ont employé la tyrothricine sur des plaies infectées, pour préparer des greffes cutanées qui ne prennent pas sur des tissus infectés. Ils ont ainsi pu stériliser rapi-

dement des plaies à germes Gram + et effectuer leurs greffes au plus tôt (RANKIN).

La tyrothricine a de même été utilisée avec succès dans les infections post-opératoires, infections dans lesquelles la culture a mis en évidence des germes Gram +. RAMMELKAMP rapporte ainsi cinq cas de plaies post-opératoires dans lesquelles la culture du staphylocoque doré était positive. Sur ces cinq cas, quatre ont réagi favorablement et la guérison a été rapide. Par contre, un insuccès a été signalé par RAMMELKAMP chez un malade atteint d'une infection staphylococcique chronique du tissu sous-cutané et chez lequel des applications de tyrothricine furent instituées après excision du tissu environnant.

2°. — Les Russes, dans les blessures de cette guerre, ont arrosé les plaies avec la suspension aqueuse de gramicidine « S » avant et après la transplantation des greffons cutanés, avec des résultats satisfaisants (KOST et STENKO). LEVINSON et BELKINA (80), dans un récent article, signalent également les heureux résultats donnés par la gramicidine « S » dans les suppurations post-opératoires.

3°. — Avec la tyrothricine produite au Centre Cabanel, nous n'avons pas eu l'occasion de traiter des plaies en vue de greffes cutanées.

Elle a, par contre, été utilisée dans plusieurs cas d'infections post-opératoires.

OBSERVATION N° 7

(Service de Monsieur le Professeur Agrégé SICARD)

Mme G..., 28 ans.

Stellectomie droite pour syndrome de RAYNAUD, le 12 juillet 1946. Bon résultat.

Stellectomie gauche, 3 mois plus tard. Résultat moins satisfaisant.

Le 13 décembre 1946 nouvelle intervention pour extirper le premier ganglion sympathique thoracique gauche.

Dans les jours suivants suppuration très abondante.

Présence de cocci Gram +.

A la fin du mois de décembre on institue un traitement à la tyrothricine (pansements humides d'une suspension à 0,5 mg. par cm3).

Les jours suivants, nette diminution de la suppuration.

Le traitement est poursuivi.

15 jours plus tard l'écoulement est tari. La plaie est propre et bourgeonne.

Conclusion. — Résultat très favorable sur la suppuration et le bourgeonnement de cette plaie profonde.

OBSERVATION N° 8

(Communiquée par Monsieur le Docteur Rey)

M. M... (Seine-et-Oise).

Accident du travail en décembre 1946 : index gauche déchiqueté par une scie à bois.

Hospitalisé. Amputé de la dernière phalange de l'index gauche.

Un mois plus tard persistance d'une suppuration fétide le long de la plaie et surtout sur le bord externe. Les lèvres de la plaie sont bordées par une escharre.

On applique des pansements locaux à la pénicilline, mais faute de quantités suffisantes de ce produit on remplace la pénicilline par la tyrothricine en pansements humides (suspension à 0,5 mg. par cm3).

— La plaie se nettoie rapidement : après six jours chute des escharres.

— Au bout de 12 jours, les 2/3 de la plaie sont cicatrisés.
Le reste de la plaie est propre.

— 8 jours plus tard cicatrisation complète.

Conclusion. — Résultat favorable et rapide sur l'infection et la cicatrisation.

OBSERVATION N° 9

(Service de Monsieur le Professeur Agrégé Sicard)

M. K..., 35 ans.

Vieille maladie de Bürger.

Ulcère de l'orteil droit.

Curettage au début janvier 1947.

Le 14 janvier l'examen du pus montre la présence de nombreux cocci Gram + et Gram —.

Un traitement à la tyrothricine (pansements humides, suspension à 0,5 mg. par cm3) est institué.

Résultat nul. La plaie continue à suppurer.

Le 25 janvier nouvel examen : colibacille et staphylocoque.

Le 30 janvier nouveau curettage du foyer d'ostéite.

Mise à plat. On essaie à nouveau un traitement à la tyrothricine.

Le 3 février nouveau prélèvement : staphylocoque et colibacille.

Le 7 février la suppuration persiste.

Conclusion. — Résultat défavorable, qui est dû à la présence de germes Gram — dans l'infection; conforme aux données expérimentales.

III. — SUPPURATIONS OSSEUSES

Il est bien évident que dans ces cas, le traitement à la tyrothricine ne peût être qu'un adjuvant de la chirurgie, puisqu'il se limite à l'utilisation locale.

Là encore le rôle du germe en cause est fondamental et tel cas d'ostéomyélite aiguë peut réagir favorablement alors que tel autre ne réagira pas, suivant la souche de staphylocoque en cause.

1°. — Les Américains donnent des résultats extrêmement variables, selon les cas, d'ostéomyélites où la tyrothricine a été utilisée.

Rammelkamp (48) cite deux cas d'ostéomyélite chronique l'un du sacrum, l'autre d'une côte. Dans les deux cas, présence de staphylocoque doré. Chez ces malades une suspension de tyrothricine était injectée dans les fistules, mais les cultures pratiquées continuèrent à montrer la présence de germes. D'après Rammelkamp il est douteux que la substance bactéri-

cide ait été en contact avec le foyer d'infection de ces deux malades.

2°. — SERGUIEV, LIRKINENKO, STENKO et GULAEVA ont publié parmi leurs trois cents cas de suppurations traités à la gramicidine « S » quelques cas de suppurations osseuses ayant favorablement réagi. En voici deux cas typiques :

— Homme de 26 ans. Entré à l'Hôpital le 8 avril pour ostéomyélite du calcanéum. Opéré le 24 avril. Tamponnement de la cavité avec de la gaze imbibée d'une suspension aqueuse de gramicidine « S » (titrant 0,8 mg. par cm^3). Au bout de trois jours le tamponnement est retiré. Pas de pus. La plaie guérit rapidement, sans suppuration.

— Homme de 48 ans, atteint de fracture ouverte du tibia et du péroné au 1/3 inférieur et d'une fracture de l'astragale. Ces fractures étaient compliquées d'une ostéite avec suppuration étendue et nécrose partielle des tissus mous. Etat général mauvais. Température atteignant 40° C. Le 30 avril 1943 on commence l'application quotidienne de suspension aqueuse de gramicidine « S ». En trois jours, la suppuration est arrêtée et l'état général amélioré. Température à 37° 4 C. Ablation chirurgicale du séquestre. Poursuite du traitement local à la gramicidine « S ». Guérison rapide.

4°) RÉSULTATS OBTENUS AVEC NOTRE PRODUIT.

OBSERVATION N° 10

(Service de Monsieur le Professeur Agrégé SICARD)

M. Paul B..., 27 ans.

En 1941 ostéomyélite de l'extrémité inférieure du tibia.

En 1943 curettage du foyer à l'Hôpital Saint-Louis.

En décembre 1945 opéré à nouveau à la Salpêtrière.

Depuis cette époque, persistance d'une fistule avec suppuration assez abondante. Pas de douleurs.

Vient consulter dans le service.

A l'examen de l'écoulement, présence de rares staphylocoques.

On institue un traitement à la tyrothricine.

Le 12 décembre 1946 première injection dans le trajet d'une suspension à 0,5 mg. par cm3. Injection douloureuse.

Le 13 décembre 1946 nouvelle injection également douloureuse (impossibilité d'injecter plus de 2 cm3 dans le trajet).

On continue néanmoins les injections qui deviennent beaucoup moins douloureuses puis rapidement indolores.

Ces injections sont poursuivies tous les deux jours jusqu'au 28 décembre, date à laquelle la cicatrisation est observée.

Conclusion. — Résultat très favorable, les injections ayant pu atteindre le foyer d'infection.

OBSERVATION N° 11

(Service de Monsieur le Professeur Agrégé Sicard)

M. B..., 30 ans.

Entré dans le service pour phlegmon de la cuisse avec ostéomyélite du fémur gauche (suite de blessure de guerre).

Incisé le 25 décembre 1946.

Pansements à la Tyrothricine.

Amélioration rapide : diminution de l'écoulement. Bourgeonnement.

Sort guéri le 24 janvier 1947.

Conclusion. — Résultat très favorable, le produit ayant pu comme précédemment atteindre le foyer d'infection.

OBSERVATION N° 12

(Service de Monsieur le Professeur Lemaitre)

Mme R..., 68 ans.

Entrée pour tertiarisme du massif maxillaire supérieur.

Cardiaque en asystolie complète.

En décembre 1946 survinrent des accidents inflammatoires subaigus de la mâchoire supérieure gauche.

Fin décembre 1946, ablation d'un volumineux séquestre intéressant tout le rebord alvéolaire supérieur gauche (sauf l'incisive médiane) :

— la moitié externe de la voûte palatine ;

— la paroi antéro-externe du sinus maxillaire jusqu'à l'orifice piriforme ;

— les tissus mous sont nécrosés.

Une surinfection importante s'y ajoute, débordant largement sur la cavité buccale surtout sur la muqueuse jugale gauche.

On institue un traitement général à la pénicilline (3 fois 300.000 unités) en négligeant le traitement spécifique.

Début janvier, stomatite ulcéro-nécrotique putride (pas d'examen bactériologique).

Le 3 janvier 1947 pansements locaux quotidiens par mèches imbibées de tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le 6 janvier désodorisation très rapide des mèches dont l'odeur au début était extrêmement fétide.

Le 8 janvier la cavité bucco-sinuso-nasale a perdu son aspect ulcéro-nécrotique. Un enduit pultacé minime recouvre la surface érodée de la vaste cavité.

Pansements espacés tous les deux jours.

Le 12 janvier la cavité est propre. La surface sinusale se tapisse d'un tissu de granulations de bon aloi.

La surface jugale amorce largement son épithélialisation.

On cesse le traitement à la tyrothricine que l'on remplace par de simples irrigations au sérum physiologique.

Conclusion. — Il semble certain que la tyrothricine ait eu un effet puissant sur les germes d'infection et ait favorisé la formation d'un tissu de régénération.

Résumé et critique. — L'ensemble de ces résultats montre que la tyrothricine a un effet favorable lorsqu'elle peut être appliquée au contact même de l'infection et lorsque les germes sont sensibles. Elle est par contre sans effet si la lésion présente en même temps des germes Gram + et Gram — (le cas n° 9 est particulièrement significatif).

Aucun effet toxique n'a été signalé chez les malades traités pendant assez longtemps à la tyrothricine. L'application donne parfois une sensation douloureuse (cas n° 10), mais qui disparaît après deux ou trois applications.

Enfin ces observations montrent que la tyrothricine semble nettement favoriser le bourgeonnement et la cicatrisation des plaies dans la majorité des cas.

LA TYROTHRICINE DANS LES PLEURESIES PURULENTES

1°. — Rammelkamp a utilisé la tyrothricine par voie intrapleurale dans quelques cas de suppuration de la plèvre.

— Dans un premier groupe de quatre cas la tyrothricine fut injectée dans la plèvre avant tout drainage chirurgical. Dans ces quatre cas l'épanchement était secondaire à une pneumonie.

— Dans un second groupe de cinq cas la tyrothricine fut adjointe au drainage chirurgical.

Dans les deux groupes la tyrothricine était administrée sous forme de suspension dans une solution de dextrose à 10 %, à une concentration variant de 0,1 à 2 mg. par centimètre cube.

a) Dans le premier groupe, un des malades présentait une pneumonie dûe au pneumocoque (type XII). L'épanchement était constitué dix jours environ après le début de la maladie. Le liquide pleural contenait 6.000 leucocytes par millimètre cube et 3 x 10^7 pneumocoques par centimètre cube. Une injection de 2 mg. de tyrothricine fut pratiquée directement dans la cavité pleurale. Huit heures plus tard la thoracentèse montrait que le liquide pleural ne contenait plus que 3 x 10^3 organismes par cm^3. Après 24 heures le nombre des germes était remonté à 55 x 10^7 par centimètre cube. 5 mg. de tyrothricine étaient de nouveau injectés et 16 heures après, la thoracentèse donnait 3 x 10^6 germes par centimètre cube. Trois autres injections, respectivement de 5, 5 et 10 mg. de tyrothricine sont restées sans effet. Pendant la période du traitement la température descendait de quelques dixièmes de degré, mais le

liquide pleural s'épaississait. L'intervention fut décidée, et à ce moment le liquide contenait 10^8 germes par centimètre cube.

Les trois autres malades de ce groupe n'ont pas accusé de changement très important après l'injection de tyrothricine. L'un d'eux a reçu une seule injection de 10 mg. et, par suite d'un choc pleural qui s'est produit pendant la thoracentèse, le traitement dut être interrompu. A l'opération, quelques jours après, le pneumocoque fut trouvé dans le liquide pleural mais peu abondant.

Un autre malade (enfant de trois mois) présentait un épanchement à staphylocoque — 3 injections, respectivement de 30 mg., 30 mg. et 100 mg. de tyrothricine sont restées sans effet. Le malade a guéri après drainage chirurgical.

Le quatrième malade avait une pneumonie avec bactériémie et épanchement stérile. La cavité pleurale reçut 200 centimètres cubes de suspension contenant 200 mg. de tyrothricine. Le liquide pleural est resté stérile.

b) Sur les cinq malades du deuxième groupe, quatre présentaient un épanchement à staphylocoque doré. Aucun changement n'a été observé pour ces malades.

Le cinquième malade a réagi rapidement au traitement à la tyrothricine : pour ce malade, un garçon de 14 ans, l'épanchement, développé comme une complication d'une pneumonie, était dû au streptocoque hémolytique. Le traitement comprenait à l'origine la sulfamidothérapie par voie buccale, puis des thoracentèses fréquentes et plus tard un drainage chirurgical. Malgré les irrigations locales et deux résections de côtes dans l'année, la cavité restait ouverte.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus par le traitement local de la cavité par la tyrothricine. Après application de petites quantités de substance bactéricide, la cavité restait stérile pendant quelques jours et la guérison était obtenue rapidement.

Jours de traitement	Culture	Dose de Tyrothricine mg.	Dimension de la cavité
1	..++ ++..	8	7 cc.
2	—	10	4
3	—		
4	+		
5	..+++....	20	1
6	—		
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13	..+++ +..	15	0,5
14			
15	—	8	
16			
17			
18			
19			
20		guérison	

TABLEAU 13

Réaction rapide d'une suppuration chronique de la plèvre à la tyrothricine (garçon de 14 ans. Infection à streptocoque hémolytique)

2. — Dans les cas publiés par SERGUIEV on trouve l'exemple suivant de réaction favorable à la gramicidine « S » d'une suppuration pleurale :

Homme de 38 ans.

Entré à l'Hôpital le 10 juin 1943 avec le diagnostic d'abcès du poumon droit et réaction pleurale droite.

Mauvais état général.

Température à 37°8 C.

Présence de pneumocoques dans l'épanchement.

Première aspiration le 10 juin : 250 cm^3 de pus visqueux fétide sont aspirés de la cavité pleurale où l'on injecte 100 cm^3

de suspension aqueuse de gramicidine « S » (de concentration non précisée).

Le 12 juin on retire 50 cm^3 de pus que l'on remplace par 50 cm^3 de suspension de gramicidine.

Le 14 juin l'exsudat est stérile.

Une radiographie pratiquée le 15 montre l'absence de liquide dans la cavité pleurale et des traces légères dans la cavité de l'abcès. Guérison rapide.

Grach dans un article récent (77) a repris l'étude de la tyrothricine dans les suppurations pleurales, et signale de bons résultats.

3°. — Nous n'avons pas eu l'occasion d'expérimenter notre produit dans les pleurésies purulentes pures.

Par contre, voici un cas où la tyrothricine a été employée dans une pleurésie tuberculeuse surinfectée.

OBSERVATION N° 13

Homme de 25 ans.

Porteur d'un pneumothorax avec épanchement (pyopneumothorax) survenu il y a quelques semaines. Surinfection secondaire où l'examen a montré la présence de streptocoques.

Lavage à la tyrothricine à la seringue de Tournant (500 cm3 d'une suspension à 0,5 mg. par cm3).

Trois jours plus tard nouveau lavage dans les mêmes conditions.

A la suite de ce deuxième lavage, diminution considérable de la fièvre, nette amélioration de l'état général.

Un nouvel examen montre à ce moment la seule présence de B. K. à l'exclusion de streptocoques et de tout autre germe de surinfection.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir eu un résultat rapide et particulièrement efficace. On n'a pas noté de signe d'irritation de la plèvre due au produit. Par ailleurs, si la tyrothricine n'est le plus souvent que d'un faible secours dans les cas de pleurésies purulentes à thorax fermé (car les sulfami-

des et la pénicilline ont là une indication plus nette que la tyrothricine), par contre, après intervention chirurgicale, la tyrothricine doit trouver une excellente indication pour les lavages de la plèvre, dans les cas d'infection à pneumocoque, à streptocoque ou à staphylocoque si le germe est sensible.

LA TYROTHRICINE EN OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE

1°. — Travaux américains.

a) Infections du nez et de la gorge.

La première étude fut celle de Schoenbach, Enders et Mueller. Cinq porteurs de streptocoques pyogènes dans le rhinopharynx furent traités localement à la tyrothricine. Deux de ces porteurs de germes étaient des convalescents de deux mois de scarlatine. Les trois autres en étaient à la troisième semaine de la maladie.

Dans l'un de ces cinq cas, l'effet du traitement local à la tyrothricine fut immédiat, et les germes disparurent. Dans les quatre autres cas, le nombre des germes diminua et ils avaient presque tous disparu après le cinquième jour, jour où le traitement fut intensifié.

Ces auteurs utilisaient une suspension de tyrothricine dans de l'eau contenant 2,5 % de glycérine, le titre final de la suspension étant de 0,25 mg. par centimètre cube. Après nettoyage minutieux du rhinopharynx, la suspension était largement répandue.

Puis la tyrothricine fut employée dans des cas de sinusites maxillaires à la Clinique Mayo. Là encore, des résultats encourageants furent obtenus, mais Herrell insiste à juste titre sur le fait que le produit ne doit être employé que dans des cas bien précis, à savoir : lorsque le germe isolé du pus est sensible à l'action de la tyrothricine et lorsque le produit peut être mis au contact direct du foyer d'infection, c'est-à-dire introduit

dans la cavité du sinus selon la méthode de PRETZ. Dans ces cas, la tyrothricine en suspension aqueuse à 0,5 mg. par cm^3 doit être utilisée dans le sinus tous les jours ou tous les deux jours.

WILLIAMS, de la section d'oto-rhino-laryngologie de la Clinique Mayo, a ainsi publié (52) 21 observations de sinusites traitées dans ces conditions. Il a obtenu 13 résultats favorables, mais il insiste justement sur le fait qu'il ne faut pas demander à la tyrothricine d'être plus qu'un antibiotique; on ne peut attendre d'elle de corriger les malformations physiques si fréquentes dans les sinusites chroniques.

LINDSAY et JUDD (53) ont poursuivi ces travaux sur la valeur de la tyrothricine dans les infections aiguës et chroniques de la partie supérieure des voies respiratoires, et dans l'élimination des bactéries pathogènes du nasopharynx et des amygdales. Ces auteurs utilisèrent le propylène glycol comme solvant : un gramme de tyrothricine était dissous dans 25 cm^3 de propylène glycol et dilué dans l'eau de manière à obtenir des solutions au 1/100, au 1/500 et au 1/1.000. La solution au 1/500 était parfaitement tolérée, alors que la solution au 1/100 irritait la muqueuse du sinus frontal. Les infections aiguës étaient traitées pendant une période de sept jours. Les résultats de ces auteurs furent dans l'ensemble décevants pour les infections chroniques et chez les porteurs de germes, et un peu plus encourageants pour les infections aiguës.

BORDLEY, CROWE, DOLOWITZ et PICKRELL ont utilisé la tyrothricine dans le traitement de plus de cent malades atteints d'infection des sinus de la face : les statistiques sont, d'après eux, sans intérêt car les effets obtenus dépendent de nombreux facteurs tels que l'identification parfaite des germes d'infection, la sensibilité des différentes souches du même organisme vis-à-vis de la tyrothricine, la présence de granulations, les exsudats épais qui empêchent le contact direct des germes avec la substance active, etc...

CROWE insiste par ailleurs sur l'importance du contact étroit que la tyrothricine doit avoir avec les organismes infectants. Pour cette raison la tyrothricine est plus efficace dans les

applications post-opératoires. Les bactéries amenées à la surface par l'intervention chirurgicale sont tuées presque instantanément; l'infection des plaies et leurs conséquences peuvent être évitées par l'emploi d'une suspension aqueuse à 1/5.000 ou à 1/10.000.

Crowe a ainsi constaté des résultats plus rapides dans le traitement des infections aiguës que dans les infections chroniques, ce qu'il attribue au fait que, dans les lésions aiguës, les microbes sont plus à la surface et entrent mieux en contact avec la tyrothricine. Dans les applications post-opératoires, la tyrothricine prévient l'infection des plaies et évite donc la formation des polypes post-opératoires. Ceci permet de guérir, sans une opération déformante, certains cas d'infection chronique du sinus frontal. Il s'agit de laver les surfaces mises à nu par l'incision externe avec une suspension à 1/5.000 de tyrothricine, et d'envelopper le sinus frontal avec de la gaze imbibée de tyrothricine. Il se produit rarement de l'œdème et, d'après Crowe, l'incision guérit très bien. Il faut continuer les lavements dans le sinus pendant dix jours encore, avec une suspension à 1/10.000 ou à 1/20.000 de tyrothricine.

b) Infections de l'oreille et de la mastoïde.

Rammelkamp rapporte 27 cas de mastoïdites aiguës traités à la tyrothricine pendant les quatre premiers mois de l'année 1941. Dans les vingt-sept cas, trente-deux mastoïdectomies ont été pratiquées, 12 des cavités mastoïdiennes ont servi de témoins, 15 ont reçu une seule application de tyrothricine et 5 ont reçu plusieurs applications. Des examens de la cavité ont été faits pendant l'opération. Sur 23 cavités mastoïdiennes servant de témoins, 11 ont montré la présence de streptocoque hémolytique dans les cultures faites après l'opération.

Sur les 15 cavités mastoïdiennes qui avaient reçu une seule application de 22 à 70 mg. de tyrothricine pendant l'opération, 8 seulement ont montré la présence de streptocoque hémolytique après l'opération.

Dans les cultures des cavités témoins, ainsi que dans celles traitées par la tyrothricine, le staphylocoque a été fréquem-

ment trouvé. La suppuration dans les cavités traitées était légèrement moindre que dans les cavités témoins. Mais aucune différence sensible entre les durées de guérison des deux séries n'a été observée. Ceci montre que l'application unique de tyrothricine pendant l'opération n'est pas suffisante pour stériliser la cavité, ou pour raccourcir le temps de guérison.

Mais il n'en est pas de même dans les cinq cas qui ont été traités pendant la période post-opératoire : chez un malade qui avait subi une intervention bilatérale, 50 mg. de tyrothricine ont été appliqués dans la cavité mastoïdienne droite pendant l'opération. Aucune autre application n'a été faite pendant les neuf semaines qui suivirent. Pendant cette période, des cultures de la cavité ont montré la présence de staphylocoque doré et de streptocoque hémolytique. On appliqua alors quotidiennement 25 mg. de tyrothricine en suspension dans la glycérine : après ce traitement les germes disparurent et la plaie cicatrisa. La cavité gauche, qui n'avait pas été traitée pendant la première semaine après l'opération, présentait également du staphylocoque doré et du streptocoque hémolytique. Pendant les trois semaines suivantes, 15 à 50 mg. de tyrothricine furent appliqués quotidiennement; mais malgré la disparition du streptocoque, le staphylocoque apparaissait toujours dans les cultures. On interrompit alors la tyrothricine, et le streptocoque reparut.

Dans deux mastoïdites traitées après l'intervention par des applications fréquentes de tyrothricine en suspension, on introduisait dans les cavités des quantités variant de 5 à 10 mg. Dans les deux cas, le staphylocoque était souvent présent dans les cultures.

Enfin dans le dernier cas le streptocoque a disparu après le traitement à la tyrothricine. Les délais sont donnés dans le tableau 14. Ces recherches démontrent que la stérilisation de cavités mastoïdiennes, infectées par du streptocoque hémolytique, est obtenue par des applications fréquentes de tyrothricine. Par contre, pour le staphylocoque, il est nécessaire d'employer des doses plus importantes.

Tableau 14

Traitement de la mastoïdite par la tyrothricine

Jours après la mastoïdectomie	Dose de Tyrothricine mg.	Cultures	
		Strept. hémol.	Staph. aureus
1	55	+	—
2			
3			
4	5	—	+
5	5	—	+
6	5	—	+
7			
8	5	—	+
9			
10	6,5	—	+
11	6,5	—	+
12			
13	6,5	—	+
14			
15	6,5	—	+
16			
17	6,5	—	—

Rammelkamp insiste sur le fait qu'aucune réaction toxique fâcheuse n'a été observée. Mais, si la tyrothricine est appliquée en solution alcoolique pendant l'opération, les globules rouges présents dans la cavité sont hémolysés et en quelques instants il se produit un saignement frais qui emplit le pansement.

Cette étude est en accord avec l'étude de Crowe et de ses collaborateurs (vue plus haut) et montre l'intérêt que présente la tyrothricine pour les traitements post-opératoires, dans les cas bien définis où la tyrothricine est active.

2°. — Les publications russes que nous avons eues entre les mains ne donnent que peu de cas d'utilisation de la gramicidine « S » en oto-rhino-laryngologie.

5) — Résultats obtenus avec notre produit

a) Infections du rhino-pharynx.

Nous avons eu l'occasion de voir 9 cas d'infection du rhino-pharynx avec céphalées violentes et début d'infection des muqueuses sinusales succédant à une grippe ou un coryza banal. Dans ces 9 cas l'examen du pus a montré la présence de pyogènes banaux Gram —. Chaque fois fut institué un traitement à la tyrothricine : 5 à 6 instillations nasales par jour avec une suspension à 0,5 mg par cm³, en essayant de laisser le liquide le plus longtemps possible en contact avec la muqueuse ou 5 à 6 pulvérisations par jour de la même suspension.

Dans 8 cas le résultat fut spectaculaire : en 24 ou 48 heures les malades furent débarrassés de leur céphalée et la suppuration fut tarie sans récidive.

Dans un cas le résultat fut très défavorable : ce cas évolua vers une sinusite maxillaire aiguë mais il y avait en outre des lésions organiques : forte déviation de la cloison).

D'une façon générale, la concentration de 0,5 mg par cm³ est parfaitement bien tolérée par la muqueuse nasale. Il est sans importance que la suspension soit déglutie. Par contre, il est préférable d'éviter qu'une grande quantité de produit passe dans les poumons où elle pourrait être la cause d'irritation locale.

Il semble donc bien que dans ces cas d'infections à germes banaux du rhino-pharynx, les lavages répétés à la tyrothricine se montrent rapidement efficaces. Il est important de ne pas cesser le traitement immédiatement après la guérison, car on s'expose à des rechutes, quelques foyers pouvant subsister.

b) Sinusites maxillaires.

OBSERVATION N° 14

Mme H.... 82 ans.

Sinusite maxillaire gauche rebelle.

Traitée sans résultat par les thérapeutiques les plus diverses, y compris les aérosols de pénicilline.

Algies violentes.

Au mois de janvier 1947, ponction du sinus avec injection d'une suspension de tyrothricine à 0,5 mg. par cm3.

Dès le lendemain de la première injection, diminution des douleurs et disparition du pus dans les fosses nasales.

Quatre injections sont ainsi pratiquées à quatre jours d'intervalle chacune.

Après la dernière injection la guérison semble assurée.

La malade a supporté la concentration de 0,5 mg. par cm3 et n'a accusé qu'une très légère irritation de la muqueuse.

Conclusion. — Résultat brillant, mais le recul n'est peut-être pas suffisant pour juger du résultat définitif.

OBSERVATION N° 15

Mme D..., 24 ans.

Début de sinusite maxillaire droite.

Céphalées violentes.

Ecoulement nasal purulent abondant.

Traitée sans succès par différentes thérapeutiques.

Ponction du sinus avec injection d'une suspension à 0,3 mg. par cm3.

Le lendemain nette amélioration : diminution de la céphalée et de l'écoulement.

Deux jours après, nouvelle injection. Le lendemain grosse amélioration, disparition des douleurs et de l'écoulement.

On pratique encore trois injections.

Huit jours après la dernière injection, la guérison semble assurée.

Conclusion. — Résultat également brillant, mais nécessitant également un recul suffisant pour un jugement définitif.

Par contre, 3 cas de sinusite maxillaire ont été traités sans succès dans le service de Monsieur le Docteur CHATELLIER à l'Hôpital Tenon. Dans ces 3 cas, l'examen bactériologique a montré, outre la présence de streptocoques et de pneumocoques, la présence d'anaérobies, ce qui explique ces insuccès. Ces 3 cas ont guéri par traitement général à la pénicilline.

c) Otites moyennes suppurées.

OBSERVATION N° 16

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. G..., 30 ans.

Le 7 janvier 1947 : otite moyenne chronique suppurée avec écoulement peu abondant non fétide.

Perforation antéro-inférieure.

Rhinite importante.

Le 8 janvier 1947, écoulement important. Lavage à la tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3) sous pression, avec spéculum de Siegle.

Le 11 janvier 1947, écoulement moins important. Même traitement.

Le 16 janvier 1947, écoulement de nouveau un peu plus important. Même traitement + mèche imbibée de suspension de tyrothricine à 0,5 mg. par cm3.

Le 17 janvier 1947. Ecoulement pratiquement nul. Manœuvre de Valsalva fait cependant sourdre une goutte de liquide clair comme de l'eau. Même traitement avec mèche.

Le 18 janvier 1947. Pas d'écoulement.

Huit jours plus tard, il n'y a pas eu de récidive et le tympan est cicatrisé.

Conclusion. — La tyrothricine semble bien avoir hâté la stérilisation de la lésion.

OBSERVATION N° 17

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mlle G...

Evidement pétro-mastoïdien gauche, il y a trois ans.

Suppuration depuis trois mois.

Traitée sans résultats au nitrate d'argent et à la pénicilline locale.

Le 26 décembre 1946 on institue un traitement à la tyrothricine.

Instillation matin et soir d'une suspension à 0,5 mg. par cm3 pendant huit jours.

Le 4 janvier 1947, nette amélioration. Persistance d'une légère suppuration.

On continue le traitement.

Le 11 janvier 1947 la suppuration est totalement tarie.

Le 18 janvier 1947, pas de récidive. La malade semble guérie.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir quelque peu hâté la stérilisation et la guérison de la lésion.

OBSERVATION N° 18

(Service de Monsieur le Professeur Lemaitre)

Mme C..., 47 ans.

Otite gauche en 1934 et 1938.

Le 6 janvier 1947 : infection du conduit auditif gauche due, semble-t-il, à des traumatismes par cure-oreille.

Ecoulement de pus fétide.

Nettoyage et traitement local.

Le 8 janvier 1947. Ecoulement abondant et fétide.

Le tympan apparaît partiellement dans un magma de pus.

Le 9 janvier 1947. Après nettoyage, le tympan apparaît rétracté et cicatriciel. Perforation inféro-postérieure.

Membrane de Schrapnell et tiers supérieur du marteau rouges.

Probablement otite réchauffée.

Traitement local.

Le 11 janvier. Ecoulement diminue.

Le 13 janvier. Ecoulement à nouveau considérable. On institue un traitement à la tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3) sous pression, avec le spéculum de Siegle.

Le 15 janvier 1947. Ecoulement insignifiant. Même traitement.

Le 16 janvier 1947. Ecoulement tari. Même traitement.

Une semaine après, l'écoulement n'a pas reparu.

Conclusion. — Dans ce cas, le résultat a été particulièrement rapide et favorable.

OBSERVATION N° 19

(Service de Monsieur le Professeur Lemaitre)

M. J..., 52 ans.

Le 28 décembre 1946 : otite aiguë droite — paracentèse, écoulement purulent important.

L'écoulement persiste abondant dans les jours suivants.

Le 10 janvier 1947 : injection sous-pression, deux fois par jour, de tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3) + désinfection rhino-pharyngée usuelle.

Dans les jours suivants, nette amélioration : diminution de l'écoulement, le malade qui devait changer plusieurs fois par jour son coton auriculaire et qui tachait son oreiller, n'est plus inquiété par son otorrhée.

Le 14 janvier, écoulement peu important. Coton imbibé de sérosité, seul l'apex du coton reste purulent. Localement tympan assez congestif. Large perforation donnant jour sur une caisse à muqueuse inflammatoire.

Le malade présente encore une rhinite avec catarrhe tubaire chronique.

Le malade sorti de l'hôpital n'a plus été revu.

Conclusion. — Résultat défavorable, la tyrothricine n'ayant pu stériliser l'écoulement (examen bactériologique non pratiqué).

OBSERVATION N° 20

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mme R...

Le 25 décembre 1946 : état grippal compliqué d'otite bilatérale.

Paracentèse.

Ecoulement abondant.

Surdité absolue.

Ecoulement continu abondant dans les jours qui suivent.

Les premiers jours de janvier, institution d'un traitement à la tyrothricine locale trois fois par jour (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le 12 janvier 1947, sort du service. Tympans cicatriciels. Audition diminuée.

Conclusion. — La Tyrothricine semble avoir eu une action sur un écoulement particulièrement abondant et sur la réparation tympanale.

OBSERVATION N° 21

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mme V..., 34 ans.

Le 12 décembre 1946 : entre à l'hôpital pour otite aiguë bilatérale. Paracentèse les jours précédents.

A droite : otite aiguë franche — écoulement abondant.

A gauche : otite avec écoulement abondant. Ablation de polypes de l'oreille faisant suspecter une otite chronique réchauffée.

Traitement à la tyrothricine locale. Injection trois fois par jour d'une suspension à 0,5 mg. par cm3.

Résultat : à droite, cicatrisation rapide du tympan, amélioration rapide de l'audition ; à gauche : suppuration persistante mais diminuée.

La malade quitte l'hôpital le 28 décembre 1946.

Quelques jours plus tard : à droite guérison ; à gauche : otite d'allure chronique.

Conclusion. — Il ne semble pas que la tyrothricine ait modifié l'évolution de cette otite et en particulier l'évolution du côté gauche vers la chronicité.

OBSERVATION N° 22

(Service de Monsieur le Professeur Lemaitre)

M. M..., 23 ans.

Malade ayant subi trois interventions successives dans le courant de l'année 1946 :

— En février 1946 : mastoïdectomie droite, guérison apparente.

— En mai 1946 : réintervention sur la mastoïde à l'occasion de phénomènes méningés.

— En novembre 1946 : évidement partiel droit : importantes lésions ostéitiques du mur du facial et de la région antrale. Les cavités attico-tympaniques sont peu intéressées. L'enclume est macroscopiquement saine.

Suites opératoires immédiates bonnes.

Le 20 novembre 1946 : apparition de douleurs mastoïdiennes, accentuation de l'écoulement auriculaire.

Traitement par des bains de pénicilline.

En décembre 1946 : on remplace la pénicilline par la tyrothricine : injection sous-pression dans l'oreille moyenne droite trois fois par jour d'une suspension à 0,5 mg. par cm3.

On poursuit ce traitement pendant quinze jours.

Résultats : une otorrhée minime de pus non fétide persiste. Le tympan reste un peu infiltré avec une suppuration antéro-supérieure.

L'exploration au stylet du pertuis conduit sur un os à contact friable, et il semble que l'on puisse déterminer l'existence d'un petit fragment osseux mobile.

Le malade quitte l'hôpital au début de janvier 1947 et poursuit le traitement à la tyrothricine à domicile.

Le 13 janvier 1947. Etat local stationnaire. (La possibilité d'une otite tuberculeuse avait été éliminée pendant son séjour à l'hôpital.)

Conclusion. — L'action de la tyrothricine semble avoir été très modeste. L'absence d'examen bactériologique ne permet pas de conclure. D'autre part, il se peut que certaines lésions osseuses aient été difficilement atteintes par la tyrothricine qui n'agit qu'au contact du foyer d'infection.

OBSERVATION N° 23

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. C..., 20 ans.

Evidement pétro-mastoïdien gauche à l'âge de cinq ans.

Présente une suppuration muco-purulente depuis plusieurs mois.

Traité sans résultat au nitrate d'argent, à l'acide borique, à l'acide borique iodé.

Le 16 décembre : injections de tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3) sous-pression.

Le 20 décembre : légère amélioration. Même traitement.

Les 24, 28, 31 décembre 1946 : nouveau traitement sans grand changement.

Les 2 et 3 janvier 1947 : nouveau traitement. Sans résultat. Le traitement est abandonné.

Conclusion. — L'effet de la tyrothricine a été, dans ce cas, absolument nul. Malheureusement l'examen bactériologique n'a pas été pratiqué.

d) Otites externes.

OBSERVATION N° 24

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mlle W... Monique.

Furoncle du conduit auditif externe droit.

Traité sans résultat au nitrate d'argent.

Le 23 décembre 1946 on commence un traitement par des bains de tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le traitement est poursuivi les 23, 24, 26 et 27 décembre.

Le 28 grosse amélioration : disparition des douleurs et du furoncle.

Le 2 janvier 1947 : apparition d'un nouveau furoncle placé à côté du précédent.

Nouveaux bains quotidiens à la tyrothricine.

Le 6 janvier : disparition totale des douleurs et du furoncle.

Huit jours plus tard il n'y a pas eu de rechute.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir indiscutablement hâté l'évolution des furoncles, sans avoir néanmoins empêché l'apparition du second.

OBSERVATION N° 25

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. C..., 24 ans.

Le 31 décembre 1946.furoncle du conduit auditif droit.

Traitement au nitrate.

Le 3 janvier 1947 : état stationnaire.

Traitement à la tyrothricine (bains avec suspension à 0,5 mg. par cm3).

Du 5 au 8 janvier : poursuite du traitement.

Le 9 janvier : le furoncle est guéri. Apparition d'un nouveau furoncle.

Poursuite du traitement jusqu'au 13 janvier. Guérison.

Huit jours plus tard, pas de récidive.

Conclusion. — Comme précédemment, la tyrothricine semble avoir hâté l'évolution des furoncles, sans néanmoins avoir empêché l'apparition du second.

OBSERVATION N° 26

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. P...

Otite externe occupant tout le pavillon gauche, très peu étendue à droite.

Traitée le 11 décembre 1946 à la pénicilline par voie générale sans résultat.

Le 7 janvier : mèche à la tyrothricine dans l'oreille gauche (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le 8 janvier : même traitement, légère amélioration.

Le traitement est poursuivi jusqu'au 13 janvier.

Le 14 janvier : amélioration de la lésion du pavillon. Persistance d'un écoulement purulent du conduit auditif.

Le 17 janvier : petit abcès du lobe de l'oreille gauche. Persistance de l'écoulement. Devant cet échec on abandonne le traitement.

Conclusion. — Résultat absolument nul.
Pas de prélèvement bactériologique.

OBSERVATION N° 27

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mlle G.... 20 ans.

Furoncle du conduit auditif droit ouvert.

Furoncle du conduit auditif gauche fermé.

Traitement quotidien à la tyrothricine du 28 décembre au 5 janvier.

Amélioration légère mais persistance des douleurs et des furoncles.

Conclusion. — La tyrothricine ne semble pas avoir modifié l'évolution des lésions.

OBSERVATION N° 28

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

M. M...

Furoncle du conduit auditif externe gauche.

Le 26 décembre 1946 : bains de tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3).

Le 27 décembre 1946 : nette amélioration. Douleur presque totalement disparue. Diminution de volume du furoncle.

Même traitement.

Le 28 décembre 1946. Diminution presque totale des douleurs et du furoncle. Même traitement.

Le 3 janvier 1947. Apparition d'un nouveau furoncle. Reprise du traitement.

Les huit jours suivants : suite du traitement à la tyrothricine. Sans résultat.

Conclusion. — Il est probable que la tyrothricine a d'abord bien agi sur une souche sensible de staphylocoques. Dans un deuxième temps, une souche résistante semble s'être développée (cas assez fréquent avec les staphylocoques comme nous le verrons plus loin).

OBSERVATION N° 29

(Service de Monsieur le Professeur LEMAITRE)

Mme B..., 58 ans.

Atteinte d'otite externe au mois d'août 1946.

Depuis cette époque, suppuration intermittente, sans guérison réelle.

En novembre 1946. Augmentation de l'écoulement. Divers traitements sont essayés : solufontamide, pénicilline locale, nitrate d'argent sans résultat.

Le 6 janvier 1947. Otorrhée importante non fétide.

Traitement au septoplix et au nitrate d'argent.

Le 10 janvier : écoulement toujours abondant.

Traitement à la tyrothricine (bains de suspension à 0,5 mg. par cm3).

Traitement poursuivi les jours suivants.

Le 13 janvier. Même traitement. Nette amélioration, diminution de l'écoulement.

Le 15 janvier. Suppuration presque tarie. Même traitement.

Le 18 janvier : reprise de l'écoulement qui persiste les jours suivants malgré le traitement.

Conclusion. — Il semble que, comme dans le cas précédent, la tyrothricine ait d'abord eu une action efficace, puis que secondairement se soit développée une souche résistante, de staphylocoques vraisemblablement. (Examen bactériologique non fait.)

Résumé et critique. — Là encore les résultats sont conformes à ce que l'on peut attendre de cette thérapeutique : il est nécessaire que la tyrothricine atteigne le foyer d'infection et que le germe soit sensible, aussi les résultats sont-ils très variables suivant les affections.

Les infections du rhino-pharynx à germes Gram + réagissent très bien.

Les sinusites aiguës semblent réagir également très favorablement aux injections dans les sinus, lorsque le germe en cause est du streptocoque ou du pneumocoque purs. Lorsque des anaérobies sont associés, le traitement à la pénicilline est préférable.

Les otites moyennes réagissent d'une façon variable : les otites chroniques, ayant souvent une large perforation qui laisse bien passer le liquide, réagissent bien si le germe est sensible (ce qui est le cas le plus fréquent).

Les otites aiguës, quoique dues le plus souvent au streptocoque ou au pneumocoque, réagissent moins bien, car l'orifice de paracentèse est souvent trop minime pour bien laisser passer les lavages et le produit atteint mal le foyer d'infection.

Enfin dans les otites externes, le staphylocoque est souvent moins sensible et réagit mal. De plus, sur un furoncle fermé, la tyrothricine agit de façon irrégulière, le produit diffusant mal comme nous le verrons au chapitre dermatologie.

D'une façon générale, la concentration de 0,5 mg. par cm^3 est parfaitement tolérée par les adultes aussi bien dans les fosses nasales que dans le conduit auditif.

Par contre, chez les enfants il semble que cette concentration soit un peu élevée : en effet, la suspension de 0,5 mg./cm^3 a été instillée après paracentèse dans le conduit auditif de plusieurs jeunes enfants (dans le service de Monsieur le Professeur LEMAITRE). A plusieurs reprises une irritation avec tuméfaction du conduit a été observée. Il semble donc que, dans ces cas, il soit nécessaire de diluer à 0,25 ou 0,3 mg. par centimètre cube.

Malheureusement notre produit n'a pas eu l'occasion d'être employé dans les soins post-opératoires de trépanation de mastoïde, cas qui est signalé par les Américains comme une des meilleures indications de la tyrothricine.

TYROTHRICINE ET DIPHTERIE

1°) Nous n'avons trouvé, dans la littérature américaine, que des faits concernant l'expérimentation « in vitro » de la tyrothricine sur le bacille de Lœffler. Nous n'avons pas trouvé d'expérimentation clinique.

2°) Mais les résultats trouvés « in vitro » par Monsieur le Docteur REILLY à l'Hôpital Claude Bernard et par Mademoiselle GYSIN dans le Service de Monsieur le Docteur HUBER à l'Hôpital des Enfants-Malades (voir chapitre : action de la tyrothricine « in vitro »), nous ont incité à essayer l'action de la tyrothricine en clinique.

Certes, on ne peut prétendre avec la seule tyrothricine traiter des angines diphtériques, et elle doit nécessairement être associée dans ces cas au sérum; mais on peut espérer avec la tyrothricine avoir une action sur la présence des bacilles dans la gorge et dans le rhinopharynx.

C'est ainsi, que dans le Service de Monsieur le Docteur HUBER à l'Hôpital des Enfants-Malades, la tyrothricine a été utilisée dans la gorge d'enfants atteints d'angine diphtérique ou simplement porteurs de bacille.

OBSERVATION N° 30

(Service de Monsieur le Docteur HUBER)

B... Julien.

Porteur de germes.

Le 17 novembre 1946 : examen de prélèvement de la gorge : présence de bacilles diphtériques.

Les 23 et 27 novembre, le 2 décembre : nouveaux prélèvements : présence de bacilles diphtériques.

Du 11 au 17 décembre, badigeonnage trois fois par jour de la gorge avec une suspension de tyrothricine à 4 mg. par cm3 d'un mélange eau-glycérine à parties égales + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Le 18 décembre : prélèvement : absence de bacilles diphtériques.

Le 23 décembre : nouveau prélèvement. Absence de bacilles diphtériques.

La souche de bacille testée « in vitro » s'était montrée inhibée dans sa croissance à la concentration de 10 μ g. par cm3.

OBSERVATION N° 31

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

B... Christiane.

Porteuse de germes.

Le 23 novembre. Prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Le 27 novembre et le 2 décembre : présence de bacilles diphtériques.

Du 11 au 17 décembre badigeonnage de la gorge trois fois par jour avec une suspension de tyrothricine à 4 mg. par cm3 d'un mélange eau-glycérine à parties égales + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Le 18 décembre. Prélèvement négatif.

La souche de bacille testée « in vitro » s'était montrée inhibée dans sa croissance à la concentration de 10 μ g. par cm3.

OBSERVATION N° 32

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

B... Marie-Louise, 7 ans.

Porteuse de germes.

Le 7 décembre : prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Du 11 au 15 décembre : badigeonnages de la gorge dans les mêmes conditions que précédemment + instillations dans le nez.

Le 16 décembre : prélèvement négatif.

OBSERVATION N° 33

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

G... Liliane, 6 ans.

Porteuse de germes.

Le 29 décembre. Prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Les 5 et 10 janvier : nouveaux prélèvements positifs.

Du 12 au 19 janvier. Applications de tyrothricine dans les mêmes conditions que précédemment (badigeonnages de la gorge + instillations dans le nez trois fois par jour).

Les 15 et 18 janvier : prélèvements. Absence de bacilles diphtériques.

OBSERVATION N° 34

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

D... Marcel, 5 ans.

Entre à l'hôpital le 23 décembre pour angine.

Le prélèvement montre la présence de bacilles diphtériques.

Traitement au sérum antidiphtérique.

Le 28 décembre. Badigeonnage de la gorge et instillation dans le nez trois fois par jour avec la même suspension que précédemment.

Le traitement est poursuivi jusqu'au 7 janvier.

Le 2 janvier : prélèvement : absence de bacilles diphtériques.

Le 8 janvier : nouveau prélèvement, même résultat.

OBSERVATION N° 35

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

P... André, 22 mois.

Entré le 31 décembre pour angine.

Prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Traitement au sérum antidiphtérique.

Le 6 janvier : nouveau prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Du 8 au 20 janvier : badigeonnage trois fois par jour avec la même suspension de tyrothricine que précédemment + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Le 13 janvier : prélèvement : absence de bacilles diphtériques.

Le 19 janvier : prélèvement : même résultat.

OBSERVATION N° 36

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

D... Michel.

Entré le 21 janvier 1947 pour angine.

Prélèvement : bacilles diphtériques.

Traitement au sérum antidiphtérique.

Du 23 janvier au 3 février : badigeonnage trois fois par jour avec la même suspension de tyrothricine que précédemment + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Le 27 janvier, prélèvement : absence de bacilles diphtériques. Présence de pneumo-bacilles.

Le 3 février, nouveau prélèvement : absence de bacilles diphtériques. Présence de staphylocoques.

OBSERVATION N° 37

C. L..., 7 ans.

Angine.

Prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Traitement au sérum antidiphtérique.

Badigeonnage de la gorge trois fois par jour avec la même suspension de tyrothricine que précédemment + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Quatre jours plus tard, nouveau prélèvement : présence de bacilles diphtériques.

Neuf jours plus tard : nouveau prélèvement : absence de bacilles diphtériques.

OBSERVATION N° 38

(Service de Monsieur le Docteur Huber)

O... Claude.

Entré le 9 janvier 1947 pour angine.

Prélèvement de la gorge : présence de bacilles diphtériques.

Le 15 janvier, nouveau prélèvement : bacilles diphtériques + staphylocoques.

Badigeonnage de la gorge trois fois par jour avec la même suspension de tyrothricine que précédemment + instillation dans le nez trois fois par jour de X gouttes de la suspension.

Le 22 janvier : présence de quelques bacilles diphtériques dans le nez.

Le 28 janvier : présence de bacilles diphtériques dans la gorge.

On cesse la tyrrothricine le 29 janvier et on administre pénicilline et anatoxine diphtérique locales. Au bout de huit jours de ce traitement le prélèvement devient négatif.

Résumé et critique. — Nous avons donc ici une série de neuf observations d'angines diphtériques ou de porteurs de germes diphtériques traités localement à la tyrothricine. Huit d'entre eux ont été stérilisés en un délai d'une semaine environ. Le neuvième est un échec.

Certes ici, comme dans nos autres chapitres, le nombre d'observations est encore trop faible pour en tirer des conclusions définitives. Néanmoins, il semble ressortir que la tyrothricine peut stériliser un rhino-pharynx infecté par le bacille diphtérique dans des conditions particulièrement rapides, plus rapides probablement que ne le font les autres procédés employés actuellement dans ce but.

La suspension de tyrothricine à 4 mg. par cm^3 nous semble peut être un peu forte surtout pour des muqueuses de jeunes enfants. Néanmoins, elle semble avoir été bien tolérée, il n'a été signalé qu'une petite réaction fébrile le deuxième jour dans plusieurs des cas cités, réaction dont il est difficile de dire si elle doit être imputée à la tyrothricine. Par ailleurs, il n'a été signalé aucune irritation locale.

En conclusion, il semble donc bien que la tyrothricine ait là une indication précise avec des résultats rapidement favorables.

LA TYROTHRICINE EN OPHTAMOLOGIE

1°. — Résultats américains.

Heath, de Détroit, a publié en 1944 (56) un article où il compare les différents avantages et inconvénients de l'emploi en ophtalmologie des sulfamides, de la pénicilline et de la tyrothricine.

En ce qui concerne la tyrothricine, cet auteur utilise une suspension titrant 0,3 mg. par centimètre cube, suspension qui est administrée par instillations 5 ou 6 fois par jour. D'après Heath, cette concentration est bien tolérée et ne cause pas d'irritation; elle peut même, sans dommage, être augmentée jusqu'à 0,5 mg. par centimètre cube. Par contre, au-dessus de cette concentration, le produit se montrerait irritant.

D'une façon générale, Heath a trouvé des résultats fort variables.

Dans la dacryocystite chronique, elle est pratiquement sans valeur.

Il a obtenu des résultats intéressants dans des cas de blépharite et de kératite ponctuée, associées à de la conjonctivite chronique.

Les conjonctivites d'origine pneumococcique réagissent particulièrement bien, d'après Heath, à la tyrothricine; par contre, les conjonctivites dues à des germes Gram — ne sont pas influencées par ce traitement, comme l'expérimentation « in vitro » le laissait d'ailleurs prévoir.

Streicher a, de son côté, publié des résultats obtenus par lui avec la tyrothricine dans des cas de conjonctivite à germes

Gram +. Il prépare extemporanément une suspension aqueuse en ajoutant à 8 cm³ d'eau distillée stérile un dixième de centimètre cube d'une solution alcoolique à 20 mg. par cm³. Les résultats donnés par cet auteur sont satisfaisants.

Enfin, Parker HEATH, dans un autre article, insiste encore sur les variations des résultats enregistrés avec les différentes thérapeutiques, suivant la virulence de l'agent d'infection et l'immunité individuelle. Ceci implique des méthodes thérapeutiques diverses.

2°. — RÉSULTATS OBTENUS AVEC NOTRE PRODUIT.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'expérimenter la tyrothricine en ophtalmologie.

LA TYROTHRICINE EN DERMATOLOGIE

1°. — Résultats américains.

Les résultats trouvés par les Américains sont entièrement variables suivant les auteurs :

Rammelkamp a publié tout d'abord deux cas d'éruption cutanée eczemateuse :

— Dans le premier cas les prélèvements faits sur les zones entourant l'infection ont montré du streptocoque hémolytique. La tyrothricine a été appliquée à une extrémité de la lésion et les cultures sont devenues stériles, tandis que les cultures faites à partir de prélèvements de la région témoin ont continué à montrer du streptocoque et la région témoin ne s'est pas améliorée.

— Dans le deuxième cas, consistant en une éruption sur le dos de la main, c'est du staphylocoque doré qui a poussé. Malgré les applications journalières de 50 à 100 mg. de tyrothricine, la stérilisation n'a pas été obtenue et aucune amélioration n'a été observée.

Il apparaît donc que le streptocoque hémolytique a parfaitement réagi au traitement alors que la souche de staphylocoque en cause dans le deuxième cas, n'était pas sensible. Herrell a retrouvé cette différence dans les cas qu'il a eus à traiter : sur 8 cas, il a ainsi obtenu 4 bons résultats.

Herrell et Heilman estiment pouvoir compter sur 43 % de résultats bons, 25 % de résultats moyens et 32 % de résultats nuls, sur 50 malades traités comprenant des infections dermatologiques, des ulcères de stases et des plaies infectées.

En 1946, Anderson (70) a étudié les diverses formes d'ap-

plication de la tyrothricine. Il a ainsi incorporé de la tyrothricine dans un certain nombre d'onguents, en employant comme véhicule les substances suivantes :

1 — Vaseline.
2 — Lanoline.
3 — Onguent à l'eau de rose.
4 — Gomme adragante.
5 — Un véhicule formé de 6 % d'ester de cholestérol dans la vaseline.
6 — Un véhicule contenant des esters d'acide gras, de la diéthanolamide et de la vaseline.
7 — Un véhicule dont la formule est la suivante :

Alcool cétylique	15
Cire blanche	1
Propylène glycol	10
Laurylsulfonate de sodium.	2
Eau	72

Les essais des pommades ont été faits sur le staphylocoque et le streptocoque hémolytique : aucune inhibition de la croissance de l'un ou l'autre des germes n'a été provoquée par une pommade contenant 100 mg. de tyrothricine par 100 cm^3. Des colonies ont poussé à la lisière de la masse de pommade étalée sur la gélose. Il résulte de ces expériences que l'activité de la tyrothricine est perdue si le produit est incorporé dans la masse de pommade. On a utilisé comme témoin une pommade au sulfathiazol qui inhibe la croissance du staphylocoque à 12 mm. et celle du streptocoque à 18 mm. autour de la masse de pommade.

Ces expériences, ainsi que les résultats très faibles obtenus dans le traitement de deux cas d'impétigo contagieux, ont conduit à la contre-indication de l'emploi du médicament sous forme de pommades jusqu'à plus ample informé.

Le même auteur a également comparé l'activité des solutions alcooliques et des suspensions aqueuses. De ces expériences, on peut conclure que les solutions alcooliques sont plus acti-

res (parce que diffusant probablement mieux) que les suspensions aqueuses. Ce sont les solutions dans l'alcool à 50° qui donnent les meilleurs résultats.

Les résultats cliniques publiés par ANDERSON portent sur 20 malades dont 4 dermites de stase, 6 ulcères, 4 echtymas, 3 dermites eczématiformes infectées et 1 pyodermite avec ulcère traumatique et escharre de décubitus. La tyrothricine était employée en pansements humides imbibés de suspension (taux variant de 0,4 à 2 mg. par cm³). Aucun effet toxique n'a été constaté. ANDERSON a obtenu de bons résultats dans 75 % des cas, des résultats moyens dans 10 % et des résultats faibles dans 15 %. Les infections purulentes se clarifient avec une rapidité remarquable, dans la plupart des maladies de la peau dues aux germes Gram +. Dans les trois cas où les résultats étaient faibles, l'infection était due aux staphylocoques.

FERRARO, qui a comparé l'activité de la tyrothricine et du sulfathiazol en usage local constate que le staphylocoque est moins souvent résistant à l'égard de la tyrothricine qu'à l'égard du sulfathiazol. Un malade atteint d'une dermite eczématiforme des deux oreilles a été traité par des pansements à l'acide borique à l'oreille droite et des pansements à la tyrothricine à l'oreille gauche. Du côté gauche l'amélioration fut beaucoup plus sensible.

FRANCIS, DOBBS et JONES (69) ont également étudié l'action de la tyrothricine en dermatologie selon les différents modes d'emploi. Ils utilisaient la suspension aqueuse à 0,5 mg. par cm³ en pansements humides recouverts d'une couche de taffetas gommé et des pommades contenant 0,5 mg. de tyrothricine par gramme. Leurs observations concernent 47 cas d'infections à pyogènes ou d'invasions secondaires par ces germes. Les résultats sont donnés dans le tableau 15.

D'après ces auteurs la tyrothricine se montre active dans les cas d'impétigo contagieux et de pyodermite. Son action dans les éruptions infectées secondaires dans le sycosis vulgaris, l'echtyma et l'eczema nummulaire est limitée. Là encore, le germe en cause et la profondeur de l'infection sont les facteurs importants de l'activité du produit.

Nom de la maladie	Nombre de cas	Durée moyenne	Culture	Tyrothricine moyenne %	Traitement	Résultats
Sycosis vulgaris	7	3 années	Staph. aureus Str. pyogènes	0,06	pansements humides, onguent	légère amélioration dans 6 cas, pas de résultat pour 1 cas.
Acné (pustuleux)	5	4 années	Staph. aureus	0,03	pansements humides onguent	pas d'amélioration dans tous les cas
Impétigo contagiiosa	8	8 jours	Staph. aureus Str. pyogènes	0,03	pansements humides onguent	Guérison pour les 8 cas
Dermatitis seborrheica avec infection secondaire	4	2 années	Staph. aureus Str. pyogènes beta hémolytique streptococcus	0,03	pansements humides	Amélioration la condition première sans changement dans 3 cas.
Echtyma	2	9 mois	Staph. aureus Str. pyogènes beta hémolytique streptococcus	0,01	pansements humides	Amélioration, la condition première pas affectée dans 1 cas.

TABLEAU 15

Résultats du traitement par la tyrothricine des malades atteints de dermatoses variées.

Nom de la maladie	Nombre de cas	Durée moyenne	Culture	Tyrothricie moyenne %	Traitement	Résultats
Fungus (nichophytox) infection secondaire		4 mois	Staph. aureus Str. pyogènes beta hémolytique streptococcus	0,03	pansements humides	Amélioration, la condition première n'est pas affectée dans 6 cas.
Ulcère décubitus (escarre sacrée)	5	4 mois	B. pyocyaneus B. coli B. proteus Strept. viridans	aucun effet avec 4 %, sauf sur les strep. qui ont été inhibés avec 0,6 %	pansements humides	légère amélioration
Pyodermite (enfants)	3	4 semaines	Staph. aureus	0,12	pansements humides	Amélioration en 4 jours
Dermatitis repens	2	.....	Staph. aureus	.....	pansements humides	Amélioration en 4 à 10 jours.
Acrodermatitis perstans	3	.....	Staph. aureus	.....	pansements humides onguent	pas d'amélioration
Eczema nummulaire	2	.....	.....	.....	pansements humides onguent	pas d'amélioration

TABLEAU 15 (suite)

Résultats du traitement par la tyrothricine des malades atteints de dermatoses variées.

Mac Kee, Sulzberger, Herrman et Harris (71) du New-York Skin and Cancer Unit., utilisent la mixture suivante :

Benzène sulfonate de sodium	1,0 gr.
Tyrothricine	0,1 gr.
Propylène glycol	10,0 gr.
Eau distillée	88,9 gr.

qu'ils appliquent soit en badigeonnage direct sur la peau, soit en pansement humide, soit par la combinaison des deux. Le propylène glycol augmente la pénétration du produit dans la peau.

Les maladies traitées étaient : différentes formes d'acné, sycosis vulgaris, furonculose, abcès, folliculite et sycosis lupoïde. Dans certains cas d'acné on a appliqué un traitement combiné au traitement soufré. Dans d'autres cas, le traitement par la tyrothricine a été employé préventivement, par exemple après électrocoagulation ou après épilation par haute fréquence. Les auteurs estiment avoir obtenu des résultats suffisamment uniformes pour encourager les recherches dans cette direction.

2°. — Serguiev a publié 267 cas d'infections cutanées traités à la gramicidine « S ».

Chez 117 malades atteints d'impétigo contagieux et traités par une solution alcoolique de gramicidine « S » titrant 0,4 mg. au centimètre cube, le délai de guérison était en moyenne de 4,1 jours. Chez 23 malades présentant des lésions plus profondes du type echtyma le délai de guérison était de 6,8 jours; 70 % des suppurations chroniques de la peau, datant de trois mois à trois ans, ont été guéries en 16 à 31 jours.

3°. — Résultats obtenus avec notre produit.

OBSERVATION N° 39

(Service de Monsieur le Docteur Tzanck)

M. B..., 33 ans, cuisinier.

Sycosis de la barbe ayant débuté au mois de septembre.

Traité successivement à l'eau de Dalibour, à l'oxyde jaune de mercure; au violet de gentiane et par la radiothérapie, sans résultat.

Puis traité au début du mois de novembre par de la pommade à la pénicilline qui provoque une poussée.

Ce traitement est abandonné et remplacé par des badigeonnages à la fluorescéine à 1/1.000 pendant trois jours, trois fois par jour — sans résultat.

Entre dans le service le 22 novembre.

Pulvérisation à l'eau de guimauve pendant quelques jours pour décaper la lésion.

Puis, à partir des premiers jours de décembre, applications :

— du côté droit : de fluorescéine à 1/1.000;

— du côté gauche : d'une solution alcoolique de tyrothricine à 1 mg. par cm3.

Ce traitement est poursuivi pendant quinze jours.

Au bout de ce temps on constate une très grande amélioration à gauche.

La tyrothricine est alors appliquée des deux côtés et quelques jours plus tard le malade peut se raser.

Sort de l'hôpital fin décembre.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir eu dans ce cas un effet actif indiscutable.

OBSERVATION N° 40

(Service de Monsieur le Docteur TZANCK)

M. B..., 20 ans.

Acné juvénile du visage durant depuis plusieurs années.

Peau très grasse.

A essayé sans résultats divers traitements (soufre, autohémothérapie, etc..., etc...).

A partir du 26 décembre : applications quotidiennes de tyrothricine en solution alcoolique à 1 mg. par cm3.

Quinze jours plus tard on constate une nette amélioration, la plupart des pustules anciennes ont disparu.

Pas de nouvelles pustules.

Le malade ne s'est pas représenté.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir eu un effet immédiat. Il serait nécessaire de surveiller les récidives et de

rechercher si des souches résistantes ne sont pas susceptibles de se développer.

OBSERVATION N° 41

(Service de Monsieur le Docteur Tzanck)

Mme A..., 28 ans.

Acné depuis deux ans sur le pourtour du visage (principalement sur le menton).

Pustules assez volumineuses.

Peau très grasse.

Traitée depuis deux ans par des thérapeutiques diverses sans résultat.

Le 2 janvier 1947 : début de traitement à la tyrothricine.

Badigeonnage deux fois par jour avec une solution alcoolique à 1 mg. par centimètre cube.

Quinze jours plus tard, nette amélioration avec disparition des pustules.

Conclusion. — Observation à peu près analogue à la précédente.

OBSERVATION N° 42

M. L..., 21 ans.

Acné juvénile durant depuis quatre ans.

Sur le visage et sur le dos.

Traité au soufre et par les vaccins sans grand résultat.

Un traitement général au chophytol a amené une amélioration passagère.

En novembre 1946 : traitement général à la pénicilline 2 fois 200.000 unités.

Résultat très faible.

En décembre 1946 le malade est porteur de grosses pustules sur une peau très grasse.

Un traitement à la tyrothricine est institué. Tout d'abord sur le visage : badigeonnage deux fois par jour avec une solution alcoolique à 25 mg. par centimètre cube.

Huit jours plus tard : grosse amélioration. Les anciennes pustules ont presque disparu et il n'en est pas apparu de nouvelles (si ce n'est une sur le menton).

On combine à la tyrothricine un traitement au soufre.

Le traitement à la tyrothricine est commencé sur le dos qui est resté dans le même état.

Huit jours plus tard : l'amélioration s'est maintenue. Poursuite du traitement.

Le malade est revu quinze jours plus tard. Son état est toujours satisfaisant.

Conclusion. — La tyrothricine semble avoir eu une action très favorable et relativement rapide. La solution à 25 mg. par cm^3 est très bien tolérée.

OBSERVATION N° 43

Mme O..., 38 ans.

Furoncle ouvert à 2 cm. de l'aile droite du nez.

Gros écoulement.

Traitée aux rayons X : résultat faible.

Reçoit 200.000 unités de pénicilline sans résultat.

Le 19 décembre : pansement humide avec une suspension aqueuse de tyrothricine à 0,5 mg. par cm3. Pansement renouvelé trois fois par jour

Le 22 décembre 1946 la lésion est cicatrisée.

Conclusion. — Certes ce résultat semble spectaculaire. Mais il se peut que la tyrothricine ait été appliquée à un moment favorable de l'évolution de la lésion et n'ait fait que hâter cette évolution.

OBSERVATION N° 44

M. D..., 19 ans.

Furoncle récidivant de la nuque (troisième en un mois).

Le 11 décembre 1946 : pansements humides à la tyrothricine (suspension à 0,5 mg. par cm3) renouvelés trois fois par jour.

Le 13 décembre, le furoncle a grossi (résultat nul).

Le 14 décembre, le malade reçoit 200.000 unités de pénicilline.

Le 15 décembre, diminution de la douleur, mais le furoncle continue son évolution.

Le 16 décembre, ouverture spontanée.

Application de tyrothricine en pansements humides comme précédemment + badigeonnage de la région avec solution alcoolique à 25 mg. par cm3.

Le 17 décembre, le bourbillon est éliminé, la suppuration est presque tarie. Suite du traitement à la tyrothricine.

Le 18 décembre, la plaie est presque fermée : suite du traitement.

Le 19 décembre : cicatrisation.

On continue pendant huit jours les badigeonnages avec la solution alcoolique à 25 mg. par cm3.

Fin janvier, il n'y a pas eu de nouveaux furoncles.

Conclusion. — Il est net que dans la première partie de l'évolution de la lésion, la tyrothricine n'a eu aucun effet. Par contre, après ouverture du furoncle, elle semble avoir quelque peu hâté la stérilisation et la cicatrisation. Ceci peut s'expliquer par le très faible pouvoir de diffusibilité que possède le produit.

OBSERVATION N° 45

(Service de Monsieur le Docteur TZANCK)

M. R..., 30 ans.

Pyodermite de la barbe datant de deux mois et demi.

Traité par l'eau de Dalibour, l'oxyde jaune de mercure pendant un mois, sans résultat.

Puis apparition d'une pyodermite des avant-bras.

Traité d'abord par des compresses à l'eau de guimauve et au bleu pour déterger les lésions.

Le 6 décembre 1946, traité d'un côté à la tyrothricine : badigeonnage avec une solution alcoolique à 1 mg. par cm3; de l'autre côté : fluorescéine à 1/1.000.

Le 11 décembre 1946 : effet absolument nul.

Le malade se plaint de douleurs lombaires et d'œdèmes (début de néphrite aiguë).

Le traitement est interrompu.

Conclusion. — L'effet local a été absolument nul. Le prélèvement bactériologique n'a pas été fait.

Il semble difficile d'admettre une relation entre le traitement à la tyrothricine et le début de néphrite, car la molécule de tyrothricine qui ne parvient pas à pénétrer dans un furoncle fermé, ne doit pas aisément atteindre le rein à partir de l'épiderme.

OBSERVATION N° 46

(Service de Monsieur le Docteur TZANCK)

M. F..., 42 ans, plongeur.

Entre à l'hôpital le 14 décembre 1946 pour dermite des deux mains avec gros œdème, lymphangite et adénite axillaire.

Eczéma infecté au niveau des doigts.

Traité à la pénicilline par voie générale le 16 décembre.

Très rapidement disparition des adénopathies, de la lymphangite et de l'œdème.

Application de crème de Dalibour jusqu'au 20 janvier.

A cette époque, persistance au niveau des mains d'un eczéma sans croûte, suintant quelque peu.

Application de tyrothricine (solution alcoolique à 1 mg. par cm3).

Cinq jours plus tard, résultat très faible.

Conclusion. — Il est difficile de conclure en l'absence de prélèvement bactériologique. En effet, il s'agit d'une vieille lésion où le cuivre et la pénicilline ont pu amener le développement de souches de germes divers résistantes à ces produits.

OBSERVATION N° 47

(Service de Monsieur le Docteur TZANCK)

M. H..., 19 ans.

Au début novembre 1946, apparition d'un furoncle de l'épicondyle gauche.

Traité localement par de l'ichtyol avec administration d'étain par voie parentérale.

Guérison du furoncle.

Un mois plus tard, apparition d'une plaque d'eczéma autour de la cicatrice du furoncle.

Puis apparition de nouvelles plaques d'eczéma sur l'autre coude et sur le pubis.

On applique pendant trois jours une solution de fluorescéine à 1/1.000, légère amélioration.

Puis application pendant deux jours de solution alcoolique de tyrothricine à 1 mg. par cm3.

Résultat très faible. On revient à la fluorescéine.

Conclusion. — Il est très difficile de tirer la moindre conclusion dans ce cas en l'absence de données bactériologiques.

D'autre part, notre produit a été essayé dans le service de Monsieur le Docteur LAPLANE, sur des dermites infectieuses diverses, chez l'enfant et le nourrisson.

On a utilisé le produit de la manière suivante :

Décapage soigneux avec une solution à 1 mg. par cm^3 suivi d'un pansement imbibé de la solution à 25 mg. par cm^3.

Les observations s'étendent sur 8 cas : à savoir 5 impétigos, une maladie de Leiner Moussus, 1 eczéma suintant et infecté du menton et 1 intertrigo.

1°) *Impétigos.*

OBSERVATION N° 48

(Service de Monsieur le Docteur LAPLANE)

B... Daniel, 4 mois 1/2.

Vu le 23 janvier 1947 avec deux lésions : impétigo étendu du cuir chevelu, intertrigo derrière les deux oreilles, apparu à l'occasion d'une furonculose et datant de trois mois + une gale infectée dont l'apparition est certainement postérieure à celle de l'impétigo.

Quatre jours après le début du traitement à la tyrothricine, on peut parler de guérison et l'on n'a à décaper les croûtes qu'une fois.

Simultanément la gale est guérie par un traitement à l'ascabiol.

Conclusion. — Excellent résultat, particulièrement rapide.

OBSERVATION N° 49

(Service de Monsieur le Docteur LAPLANE)

Fillette de 4 ans.

Impétigo survenant sur des lésions traumatiques au niveau des mains et sur la lèvre inférieure gercée.

Application du traitement à la tyrothricine.

Cinq jours après, guérison de la lèvre.

Guérison plus longue des mains et si les éléments impétiginés s'assèchent rapidement, les croûtes se reproduisent pendant une dizaine de jours, laissant place à une kératinisation importante.

Conclusion. — Résultat assez moyen.

OBSERVATION N° 50

(Service de Monsieur le Docteur LAPLANE)

O... Marlène (18 mois).

Volumineux impétigo du cuir chevelu, vu le 9 janvier 1947.

Traitement à la tyrothricine.

Le 14 janvier 1947 : amélioration notable.

L'enfant est revu quotidiennement dans le service.

Le 8 février son impétigo persiste. Le traitement à la tyrothricine est abandonné.

Conclusion. — Résultat défavorable. Le produit semble avoir eu une légère action au début. Peut-être y a-t-il eu formation de souches résistantes.

Les deux cas suivants sont encore en observation :

— Un impétigo très léger du cuir chevelu avec intertrigo vu le 1er février 1947 et qui persiste après huit jours de traitement.

— Un autre impétigo vu le 4 janvier 1947, localisé à la partie postérieure du cuir chevelu s'est amélioré localement au bout de quatre jours de traitement mais s'est étendu en avant et derrière l'oreille droite.

2°) *Maladie de Leiner Moussus.*

OBSERVATION N° 51

(Service de Monsieur le Docteur LAPLANE)

Enfant présentant une desquamation purpuracée de tout le tronc et du crâne.

Traitement à la tyrothricine : badigeonnage avec une solution à 1 mg. par cm3.

Trois jours après le début du traitement, l'enfant est revu avec un aspect d'érythème fessier banal.

Conclusion. — Très bon résultat.

3°) *Eczéma.*

Enfant présentant un eczéma suintant et infecté du menton.

Traitement à la tyrothricine.

Revu cinq jours plus tard avec un impétigo important développé « in situ ».

4°) *Intertrigo.*

Enfant présentant un intertrigo du cou, de l'aisselle gauche, et des deux oreilles.

Traité par une pâte à l'eau : guérison au niveau du cou et de l'aisselle.

Persistance de la lésion au niveau des oreilles.

Traité à la tyrothricine au niveau des oreilles : sans résultat.

Résumé et critique. — Les conclusions sont difficiles à tirer de cette série d'observations, car les résultats en sont fort divers. Certains cas de sycosis ou d'impétigo ont guéri rapidement et définitivement; d'autres cas du même ordre n'ont absolument pas été influencés par le traitement.

Les cas de pyodermite et de furonculose ont, eux aussi, réagi de façon fort variable; on peut attribuer ces différents résultats à deux causes principales :

1°) Les germes, qui sont le plus souvent des staphylocoques au niveau de la peau et dont RAMMELKAMP a montré les variations de résistance à la tyrothricine selon les souches.

2°) La mauvaise pénétration du produit. Il est certain que l'épaisseur de la couche de tissu qui sépare le produit du centre d'infection a une grosse importance. Le cas n° 44 du furoncle qui, fermé n'a pas réagi, et ouvert a cicatrisé presque immédiatement avec la tyrothricine, en est un exemple

Nous n'avons malheureusement pas eu l'occasion d'utiliser les supports au propylène glycol que les Américains ont trouvés les plus favorables à la pénétration de la tyrothricine dans les tissus. C'est dans ce sens qu'il faut probablement poursuivre l'expérimentation clinique.

Enfin, d'une façon générale, le produit est bien supporté par la peau, aux diverses dilutions, chez l'enfant comme chez l'adulte. Il n'a été signalé qu'un cas d'érythème de la face pouvant être attribué peut-être aux applications de tyrothricine.

LA TYROTHRICINE EN UROLOGIE

En urologie et de même, comme nous le verrons, en gynécologie, la tyrothricine est, de par sa nature même d'agent local, d'un emploi bien limité et bien précis : les infections à germes Gram +, strictement localisées à la partie basse des voies urinaires ou génitales de manière à ce qu'on puisse les atteindre par lavage. Il faut, en outre, qu'à côté de l'infection basse n'existe pas une infection des voies supérieures, infection qu'on ne saurait atteindre et qui ensemencerait les régions inférieures au fur et à mesure qu'elles seraient stérilisées.

1°. — Résultats américains.

Hessell a effectué avec succès des instillations quotidiennes, dans l'urètre et dans la vessie, d'une suspension aqueuse titrant 0,5 mg. par centimètre cube. Le liquide est maintenu en place le plus longtemps possible. Les infections urétrales et vésicales à germes Gram + ont été ainsi rapidement stérilisées.

2°. — Résultats obtenus avec notre produit.

OBSERVATION N° 52

M. P..., 24 ans.

Atteint au mois de septembre 1946 d'urétrite gonococcique.

Traité à cette époque par 300.000 unités de pénicilline.

[illegible]

Reprise de l'écoulement trois semaines plus tard.

Traité aux sulfamides et par des lavages au permanganate sans grands résultats.

Vient nous voir le 4 janvier : présence à cette date d'un écoulement peu abondant, trouble. Présence de filaments dans les urines.

Une lame faite sur l'écoulement montre la présence de nombreux germes banaux Gram + (surtout staphylocoques).

Le 7 janvier, instillation de 20 cm3 d'une suspension de tyrothricine à 0,5 mg. par cm3. Maintenue en place le plus longtemps possible. Le malade accuse une sensation de brûlure.

Le 9 janvier, l'écoulement a diminué et est limpide. Une nouvelle lame montre une nette diminution du nombre des germes. Instillation de 20 centimètres cubes d'une suspension à 0,3 mg. par cm3. Cette dilution plus faible est parfaitement tolérée.

Le 11 janvier, l'écoulement a presque disparu et est stérile à l'examen microscopique. Nouvelle instillation comme précédemment.

Le 13 janvier, persistance d'un léger suintement stérile.

Nouvelle instillation.

Le 15 janvier, cinquième instillation.

Le malade est mis au repos.

Revu le 29 janvier, persistance d'un très léger suintement matinal, mais stérile.

OBSERVATION N° 53

M. F..., 29 ans.

Atteint au mois de novembre 1946 d'uréthrite gonococcique.

Traité par le Dagénan.

Arrêt de l'écoulement.

Reprise de l'écoulement un mois plus tard.

Vient nous voir le 16 décembre 1946 et présente à cette date un écoulement assez abondant, purulent. Présence de nombreux filaments dans les urines.

La lame montre la présence de nombreux germes Gram + et Gram — mais sans gonocoques.

Nous essayons néanmoins le traitement à la tyrothricine.

Le 20 décembre, instillation de 20 cm3 d'une suspension à 0,5 mg. par centimètre cube, maintenue en place le plus longtemps possible. La concentration est très bien supportée.

Le 22 décembre, l'écoulement a un peu diminué. Nouvelle instillation dans les mêmes conditions.

Le 24 décembre, pas de changement. Nouvelle instillation.

Le 26 décembre, pas de changement. Une nouvelle lame montre une grosse diminution des germes Gram + et par contre un développement considérable des germes Gram —.

Le traitement est abandonné.

Résumé et critique. — Il est bien évident que ces deux cas sont insuffisants pour tirer des conclusions définitives. Mais ces deux cas sont néanmoins typiques et les résultats ont été ce qu'on pouvait attendre des données bactériologiques. Il semble bien que, dans ces écoulements à germes banaux (le plus souvent Gram +) qui surviennent assez fréquemment dans les suites de traitement d'urétrite gonococcique (en particulier après la pénicilline), la tyrothricine puisse jouer un rôle utile.

La concentration de 0,5 mg. par cm^3 semble être un peu forte pour la muqueuse enflammée. Il semble que la concentration de 0,3 mg. par cm^3 soit préférable.

LA TYROTHRICINE EN GYNECOLOGIE

Les indications que nous avons signalées pour l'emploi de la tyrothricine en urologie se retrouvent en gynécologie. Le traitement à la tyrothricine n'est valable que dans le cas d'infection des voies basses, dues à des germes Gram + .

1°. — Résultats américains.

Piper a utilisé la tyrothricine dans le traitement d'infections vaginales à germes Gram + . Il utilise des irrigations de suspension aqueuse à 0,5 mg. par centimètre cube, ou plutôt des insufflations vaginales de la poudre boriquée contenant 500 mg. de tyrothricine pour 100 grammes d'acide borique pulvérisé (voir chapitre : préparation et mode d'emploi). Après insufflation la poudre est laissée à demeure.

2°. — Résultats obtenus avec notre produit.

OBSERVATION N° 54

(Service de Monsieur le Professeur Mocquot)

Mme B..., 47 ans.

Opérée autrefois d'hystérectomie et de périnéorraphie.

Présente des pertes blanches.

Prélèvement effectué le 3 décembre 1946 : flore à Gram +.

Traité à la tyrothricine à partir du 3 décembre 1946, trois fois par semaine pendant quinze jours, par compresse humide imbibée d'une suspension à 0,5 mg. par cm3 et maintenue en place plusieurs heures.

Diminution, puis disparition des pertes à la fin du mois de décembre 1946.

Conclusion. — Bon résultat. Dans un cas de vaginite pure qui ne risque pas d'être recontaminée par une infection plus haut placée.

OBSERVATION N° 55

Mme T..., 28 ans.

Atteinte en mai 1946 d'une vaginite et bartholinite à gonocoque. Traitée à cette époque avec la pénicilline par voie générale.

Arrêt de l'écoulement.

Reprise d'un écoulement abondant fin septembre.

Traitée à nouveau par la pénicilline générale, mais sans résultat.

Traitée par les sulfamides fin octobre, début novembre sans grand résultat.

Le 16 décembre, un prélèvement montre la présence de germes banaux, principalement du staphylocoque, à l'exclusion de germes Gram —.

A l'examen, muqueuse vaginale très enflammée. Ecoulement minime par le col.

Un traitement à la tyrothricine est institué, par des irrigations et des pansements humides avec une suspension à 0,5 mg. par cm3 répétés quotidiennement.

Le 20 décembre nette amélioration. Le linge de la malade est moins taché. La muqueuse vaginale a meilleur aspect.

Poursuite du traitement.

Le 26 décembre, nouvelle amélioration. Un prélèvement montre la diminution considérable du nombre de germes.

Poursuite du traitement.

Le 2 janvier, l'écoulement a pratiquement disparu.

Poursuite du traitement.

Quelques jours plus tard la malade est revue en excellent état.

Quinze jours plus tard l'écoulement n'a pas reparu.

Conclusion. — Bon résultat, car vaginite à peu près pure, sans infection plus haut placée et pouvant réinfecter la région.

OBSERVATION N° 56

(Service de Monsieur le Professeur Mocquot)

Mme de B..., 22 ans.

Pertes blanches datant du mois d'avril 1946 ; suite d'accouchement.

Déjà traitée par les sulfamides et la pénicilline sans résultats.

Le 28 novembre 1946 — A l'examen : vaginite importante avec endocervicite.

Le prélèvement montre la présence de germes banaux.

Au début décembre, on institue un traitement à la tyrothricine, pansements humides (suspension à 0,5 mg. par cm3) maintenus en place plusieurs heures ; trois jours par semaine.

Huit jours après on note une nette amélioration — Poursuite du traitement.

Le 15 décembre. Reprise de la vaginite avec écoulement abondant.

Conclusion. — Il s'agit ici d'une vaginite avec infection endocervicale. La tyrothricine, dans un premier temps a agi sur la vaginite sans atteindre l'infection supérieure. Mais secondairement, cette dernière a réensemencé les parties basses.

Résumé et critique. — Le nombre de cas cités est évidemment insuffisant, mais ces cas sont néanmoins assez typiques : les deux premiers, où la lésion vaginale est isolée ont favorablement réagi, alors que le troisième n'a pu être stérilisé. Ceci s'explique sans peine par la réinfection due à la métrite ou à la salpingite.

Il apparaît donc bien que la tyrothricine est en gynécologie d'un emploi limité, les cas où existe une vaginite isolée étant eux-mêmes fort limités.

LA TYROTHRICINE EN ART VETERINAIRE

1°) Les travaux de LITTLE, DUBOS et HOTCHKISS (59) ont montré que la tyrothricine possédait une activité considérable à l'égard du streptocoque agalactiae; c'est ce qui a conduit à utiliser la tyrothricine dans le traitement de la mastite bovine.

Les auteurs américains utilisent une suspension dans une huile minérale contenant 1,5 ou 2 mg. par centimètre cube, en instillations quotidiennes de 15 à 30 centimètres cubes de suspension par quartier.

Les premières expérimentations américaines (60, 61) ont montré que, sur 31 quartiers ainsi traités, 26 ont réagi très favorablement : 20 étaient entièrement stérilisés à la suite d'une seule injection, les six autres l'étaient peu après.

Les travaux suivants (62-65) ont confirmé l'activité de la tyrothricine dans la mastite bovine à streptocoque.

2°) Les premières expériences effectuées avec notre produit, par les vétérinaires français, se montrent à peu près parallèles dans leurs résultats aux expériences américaines.

Ceci peut avoir des conséquences heureuses sur la production du lait.

FACTEURS DETERMINANT L'EFFICACITE DE LA THERAPEUTIQUE PAR LA TYROTHRICINE

Il ressort des travaux étrangers et des observations que nous publions ci-dessous que la thérapeutique par la tyrothricine dépend de quelques facteurs qui sont la sensibilité du germe, le manque de diffusibilité du produit et le fait que la tyrothricine précipite quand elle se trouve au contact de solutions d'électrolytes. Nous allons envisager maintenant ces différents facteurs :

1°. — Sensibilité des germes.

Nous avons déjà étudié lors de l'expérimentation « in vitro » les différences qui existent dans la sensibilité des divers germes à cet antibiotique, nous n'y reviendrons pas.

Mais des différentes observations, tant étrangères que françaises, nous tenons la confirmation des résultats de l'expérimentation « in vitro ». Tout d'abord presque chaque fois que le produit a été appliqué sur une infection causée uniquement ou partiellement par des germes Gram — les résultats ont été nuls.

Ensuite dans la gamme des germes Gram +, tous ne réagissent pas de la même façon : ce sont les streptocoques qui en général réagissent de beaucoup le mieux et le plus rapidement, puis les pneumocoques et enfin les staphylocoques, mais ceux-ci d'une façon très variable selon les souches, (résultats qui correspondent très exactement à l'expérimentation « in vitro » de Kammelkamp).

Cette variation dans la sensibilité prend donc une importance considérable pour le choix de la tyrothricine dans le traitement des infections. Un point également important est le développement de souches résistantes pendant le traitement. On note quelquefois en effet une réaction tout d'abord très favorable des germes et secondairement, au bout de 10 à 15 jours de traitement environ, on assiste à une nouvelle évolution de l'infection.

Il semble que ce développement de souches résistantes ne prenne de l'importance que dans les infections staphylococciques. « In vitro » il n'a pas été possible de produire un gros accroissement de la résistance des streptocoques, même en cultivant ce germe pendant plusieurs semaines, sur un milieu contenant de la tyrothricine. Par contre, les staphylocoques acquièrent assez facilement cette résistance. RAMMELKAMP (12) a trouvé le produit presque inactif à l'égard de souches cultivées pendant 10 jours dans un milieu contenant de la tyrothricine. Par hasard, nous avons procédé à une expérimentation analogue, lors d'un dosage par la méthode des dilutions : des tubes de bouillon contenant de la tyrothricine et ensemencés avec du staphylocoque furent, par erreur, remis à l'étuve après lecture des résultats. Ces tubes furent retrouvés deux semaines plus tard. Les résultats étaient quelque peu modifiés : certains tubes, qui auparavant étaient clairs, apparaissaient alors complètement troubles, car le staphylocoque avait poussé secondairement; dans cette zone de tubes, la tyrothricine avait eu une action bactériostatique, mais non pas bactéricide.

Sur ces bouillons fut effectué un prélèvement, suivi d'un réensemencement sur une nouvelle échelle de dilutions ; les résultats furent très différents des résultats initiaux : alors que 15 jours plus tôt une concentration de 1 μg. par cm^3 suffisait à empêcher la croissance du germe, il fallait cette fois dépasser 10 μg. par cm^3 pour obtenir une action bactériostatique.

Il en résulte, au point de vue thérapeutique, que, dans les infections à staphylocoques, la stérilisation doit être obtenue très rapidement, faute de quoi le développement de souches résistantes est à craindre.

2°. — Diffusibilité du produit.

Nous avons vu, dans un précédent chapitre, que les molécules des composants de la tyrothricine sont très grosses. Ce fait, ajouté à l'insolubilité de la tyrothricine dans l'eau, rend le produit extrêmement peu diffusible.

Il est donc important que la solution ou la suspension employée soient au contact même du foyer d'infection. Ceci est particulièrement net au niveau de l'œil par exemple : alors que la pénicilline, qui diffuse très bien, peut pénétrer assez profondément dans les couches cellulaires de l'œil et atteindre des infections relativement profondes, la tyrothricine est arrêtée par la couche épithéliale superficielle et ne peut agir que dans les infections très superficielles.

Cette faible diffusibilité explique aussi certains insuccès dans des infections à point de départ osseux où il n'est pas toujours possible d'atteindre, par des irrigations, le foyer d'infection.

En dermatologie enfin, ce manque de diffusibilité explique pour une part, avec les différences de sensibilité des souches, les variations dans les résultats : dans un abcès ou un furoncle, par exemple, qui ne sont pas encore ouverts vers l'extérieur, la tyrothricine ne franchit pas le barrage des tissus et son action est faible. Par contre, dans les infections où le pus n'est séparé du produit que par une mince couche épithéliale, l'action est beaucoup plus efficace.

3°. — Enfin, il est important de souligner que la tyrothricine est précipitée quand elle entre en contact avec des solutions d'électrolytes comme le sérum et les suintements de certaines plaies; il est donc parfois difficile pour la tyrothricine précipitée de venir au contact des germes. Dans les infections qui présentent un exsudat considérable, les particules de produit appliquées sur la lésion risquent d'être enlevées mécaniquement. Ceci est particulièrement fréquent dans les ulcères des membres inférieurs : si le malade reste couché, le suintement est faible et la plaie reste aisément stérile 24 heures, alors que dans le cas d'un traitement ambulatoire, le suintement est beau-

coup plus abondant et le pansement doit être fait deux fois par jour.

Dans bien d'autres cas, les otorrhées à gros écoulement par exemple, la tyrothricine est également enlevée mécaniquement, ce qui nécessite de fréquentes applications.

Cette précipitation explique encore que la quantité de produit nécessaire pour stériliser une infection soit généralement plus grande que la quantité déterminée par des expériences « in vitro ». Il a été trouvé par exemple que le sérum, les sérosités et les fèces produisent une inhibition marquée. Il faut des quantités environ cent fois plus grandes de produit pour détruire les organismes en leur présence, qu'il n'en faut en leur absence. Le degré d'inhibition produit par les fèces a été étudié par WEINSTEIN et RAMMELKAMP : il a été impossible de débarrasser les intestins de la souris du B. acidophilus alors qu' « in vitro » cet organisme se montrait sensible à l'action de la tyrothricine. Les matières fécales de la souris inhibent l'action du produit.

CONCLUSIONS

Nous avons résumé dans cette étude les résultats expérimentaux et les résultats cliniques fournis par la tyrothricine.

Il en résulte que :

I. — La tyrothricine est un médicament d'usage exclusivement local vue sa haute toxicité; elle ne doit en aucun cas entrer en contact avec le sang circulant.

II. — Elle ne peut s'appliquer avec succès que sur des infections à germes Gram +, les germes Gram — n'étant pas sensibles à son action et même inhibant cette action. Parmi les germes Gram +, le streptocoque réagit le mieux, le staphylocoque pouvant développer des souches résistantes. Le bacille de Lœffler est également très sensible.

III. — Ce médicament doit être appliqué au contact même des germes d'infection à cause de sa faible diffusibilité.

IV. — Mais à côté de ces propriétés fâcheuses, sa stabilité à la température ordinaire en rend la manipulation extrêmement aisée.

V. — En action locale et dans le cadre des indications précédentes, il semble que la tyrothricine soit d'une valeur thérapeutique certaine. Outre sa manipulation plus aisée, elle possède sur la pénicilline un avantage net : le facteur temps. La bactérie est tuée instantanément quand elle se trouve en contact avec la tyrothricine, et beaucoup plus lentement avec la pénicilline. Pour ces raisons, il nous semble que l'emploi de la

tyrothricine est préférable dans les cas où il s'agit de réduire l'infection des plaies et leurs conséquences au minimum.

Par contre, dans les infections profondes, l'effet de la pénicilline se manifestera mieux à cause de sa meilleure pénétration des tissus.

D'une façon générale, il est préférable d'employer ces agents antibiotiques liquides à la place de la poudre de sulfamides qui risque de former des croûtes ce qui n'est généralement pas souhaitable.

De plus, la venue de ce bactéricide permet, par les changements de thérapeutiques, de lutter contre l'accoutumance des germes à un produit, phénomène malheureusement fréquent.

La tyrothricine fournit donc à la thérapeutique un apport indiscutable. Elle ne se substitue pas aux agents qui agissent par voie générale, mais les complète : elle peut ainsi être associée avec profit à un traitement général par la pénicilline ou par les sulfamides.

Vu, le Doyen :
BINET

Vu, le Président de Thèse :
MOREAU

Vu et Permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris :
G. ROUSSY

BIBLIOGRAPHIE

1 — Dubos (R.-J.). — Bactericidal effect of an extract of a soil bacillus on gram-positive cocci. (*Proc. Soc. Exper. Biol. et Med.*, 40 : 311-312 (Feb.), 1939).

2 — Dubos (R.-J.). — Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. I. Preparation of the agent, its activity in vitro. (*J. Exper. Med.*, 70 : 1-10 (July), 1939).

3 — Dubos (R.-J.) and Cattaneo, Carlo. — Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. III. Preparation and activity of a protein-free fraction. (*J. Exper. Med.*, 70 : 249-256 (Sept.), 1939).

4 — Hotchkiss (R.-D.) and Dubos (R.-J.). — Fractionation of the bactericidal agent from cultures of a soil bacillus. (*J. Biol. Chem.*, 132 : 791-792 (Feb.), 1940).

5 Hotchkiss (R.-D.) and Dubos (R.-J.). — Bactericidal fractions from an aerobic sporulating bacillus. (*J. Biol. Chem.*, 136 : 803-804 (Dec.), 1940).

6 — Dubos (R.-J.) and Hotchkiss (R.-D.). — Origin, nature and properties of gramicidin and tyrocidine. (*Tr. and Stud. Coll. Physicians*, Philadelphia, 10 : 11-19 (Apr.), 1942).

7 — Dubos (R.-J.). — Utilization of selective microbial agents in the study of biological problems (Harvey, Lecture). (*Bull. New-York Acad. Med.*, 17 : 405-422 (June), 1941).

8 — Herrell (W.-E.) and Heilman (Dorothy H.). — Experimental and clinical studies on gramicidin. (*J. Clin. Investigation*, 20 : 583-591 (Sept.), 1941 ; also Society Report, p. 433 (July), 1941).

9 — King (J.-T.), Henschel (A.-F.) and Green (B.-S.). — The bacteriostatic and antitoxic actions of sulfanilamide : tissue culture studies. (*J. A. M. A.*, 113 : 1704-1709 (Nov. 4) 1939).

10 — King (J.-T.). — Special incubator for tissue cultures. (*Arch. f. exper. Zellforsch.*, 20 : 208-212, 1937).

11 — Rodaniche (E.-C.) and Palmer (W.-L.). — The action of tyrothricin on fecal streptococci in vitro and in vivo. (*J. Infect. Dis.*, 72 : 154-156 (Mar. Apr.) 1943).

12 — Rammelkamp (C.-H.). — Observations on resistance of Staphylococcus aureus to action of tyrothricin. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 49 : 346-350 (Mar.) 1942).

13 — Downs, Cornelia (M.). — The effect of gramicidin and tyrocidine on various bacteria. (*J. Bact.*, 44 : 392 (Sept.) 1942).

14 — Downs, Cornelia (M.). — The effect of bactericidal agents on gram-negative cocci. (*J. Bact.*, 45 : 137-142 (Feb.) 1943).

15 — Stockinger (H.-E.), Ackerman, Helen and Carpenter (C.-M.). — The use of tyrothricin in culture mediums as an aid in the isolation of Neisseria gonorrhoeae. (Abstr.). (*J. Bact.*, 45 : 31 (Jan.) 1943).

16 — Dubos (R.-J.), Hotchkiss (R.-D.) and Coburn (A.-F.). — The effect of gramicidin and tyrocidine on bacterial metabolism. (*J. Biol. Chem.*, 146 : 421-426 (Dec.) 1942).

17 — Robinson (H.-J.) and Graessle (O.-E.). — In vitro and in vivo studies of gramicidin, tyrothricin and tyrocidine. (*J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 76 : 316-325 (Dec.) 1942).

18 — Trussell (P.-C.) and Sarles (W.-B.). — Effect of antibiotic substances upon rhizobia. (Abstr.) (*J. Bact.*, 45 : 29 (Jan.) 1943).

19 — Dubos (R.-J.). — Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. II. Protective effect of the bactericidal agent against experimental pneumococcus infections in mice. (*J. Exper. Med.*, 70 : 11-17 (July) 1939).

20 — Dubos (R.-J.) and Hotchkiss (R.-D.). — The production of bactericidal substances by aerobic sporulating bacilli. (*J. Exper. Med.*, 73 : 629-640 (May) 1941).

21 — Weinstein (Louis) and Rammelkamp (C.-H.). — A study of the effect of gramicidin administered by the oral route. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 48 : 147-149 (Oct.) 1941).

22 — Rammelkamp (C.-H.). — Tyrothricin therapy of experimental hemo-

lytic streptococcal empyema. (*J. Infect. Dis.*; 71 : 40-46 (July-Aug.) 1942).

23 — Tillett (W.-S.), Cambier (Margaret J.) and Harris (W.-J. Jr.). — Sulfonamide-fast pneumococci. A clinical report of two cases of pneumonia together with experimental studies on the effectiveness of penicillin and tyrothricin against sulfonamide-resistant strains. (*J. Clin. Investigation*, 22 : 249-255 (Mar.) 1943).

24 — Robson (J.-M.) and Scott (G.-I.). — The production and treatment of experimental pneumococcal hypopyon ulcers in the rabbit. (*Brit. J. Exper. Path.*, 24 : 50-56 (Apr.) 1943).

25 — Heilman (Dorothy) and Herrell (W.-E.).). — Mode of action of gramicidin. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 47 : 480-484 (June) 1941).

26 — Lamar (R.-V.). — Chemo-immunological studies on localized infections. Second paper : Lysis of the pneumococcus and hemolysis by certains fatty acids and their alkali soaps. (*J. Exper. Med.*, 13 : 380-386 (Mar.) 1911).

27 — Avery (O.-T.). — A selective medium for B. influenzae. (*J. A. M. A.*, 71 : 2050-2051 (Dec. 21) 1918).

28 — Walker (J.-E.). — The germicidal properties of chemically pure soaps. (*J. Infect. Dis.*, 35 : 557-566, 1924).

29 — Eggerth (A.-H.). — The germicidal action of hydroxy soaps. (*J. Exper. Med.*, 50 : 299-313 (Sept.) 1929).

30 — Bayliss Milward and Halvorson (H.-O.). — Germicidal and detoxifying properties of soaps. (Abstr.) (*J. Bact.*, 29 : 9 (Jan.) 1935).

31 — Baker Zelma, Harrison (R.-W.) and Miller (B.-F.). — Action of synthetic detergents on metabolism of bacteria. (*J. Exper. Med.*, 72 : 249-271 (Feb.), 1941).

32 — Herrell (W.-E.) and Heilman (Dorothy). — Tissue culture studies on cytotoxicity of bactericidal agents. III. Cytotoxic and antibacterial activity of gramicidin and penicillin ; comparison with other germicides. (*Am. J. M. Sc.*, 206 : 221-226 (Aug.) 1943).

33 — Pittman (Margaret). — The action of mixtures of germicides against gram-negative rods. (Abstr.) (*J. Bact.*, 47 : 427 (May) 1944).

34 — Heilman (Dorothy) and Herrell (W.-E.). — Hemolytic effect of gramicidin. (*Proc. Soc. Exper. Bio. and Med.*, 46 : 182-184 (Jan.) 1941).

35 — Mann (F.-C.), Heilman (Dorothy) and Herrell (W.-E.). — Effect of serum on hemolysis by gramicidin and tyrocidine. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 52 : 31-33 (Jan.) 1943).

36 — Herrell (W.-E.) and Heilman (Dorothy). — Further experimental and clinical studies on gramicidin. (Society Proceedings.) (*J. A. M. A.*, 118 : 1401-1402 (Apr. 18) 1942).

37 — Macleod (C.-M.), Mirick (G.-S.) and Curnen (E.-C.). — Toxicity for dogs of a bactericidal substance derived from a soil bacillus. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 43 : 461-463 (Mar.) 1940).

38 — Robinson (H.-J.) and Moltrop (Hans). — Some toxicological and pharcoligical properties of gramicidin, tyrocidine and tyrothricine. (*J. Pharmacol. et Exper. Therap.*, 74 : 75-82 (Jan.) 1942).

39 —Clapp (Mary P.). — In vitro effect of tyrothricin and tyrocidine hydrochloride on polymorphonuclear leukocytes. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 51 : 279-281 (Nov.) 1942).

40 — Rammelkamp (C.-H.) and Weinstein (L.). — Toxic effects of tyrothricin, gramicidin and tyrocidine. (*J. Infect. Dis.*, 71 : 166-173 (Sept.-Oct.), 1942).

41 — Herrell (W.-5.) and Heilman (Dorothy). — Tissue culture studies on cytotoxicity of bactericidal agents. I. Effects of gramicidin, tyrocidine and penicillin in cultures of mammalian lymph node. (*AM J. M. Sc.*, 205 : 157-162 (Feb.) 1943).

42 — Herrel (W.-9.), Heilman (Dorothy) and Gage (Robert). — Tissue culture studies on cytotoxicity of bactericidal agents. II. Effects of tyrothricin, gramicidin and tyrocidine on culture of mammalian spleen. (*Am. J. M. Sc.*, 206 : 26-31 (July) 1943).

43 — Henle (Gertrude) and Zittle (C.-A.). — Effect of gramicidin on metabolism of bovine spermatozoa. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 47 : 193-198 (June) 1941)

44 — Rammelkamp (C.-H.). — Use of tyrothricin in the treatment of infections: clinical studies. (*War. Med.*, 2 : 830-846 (Sept.) 1942).

45 — Herrell (W.-E.). — Gramidicin and penicillin. (*S. Clin. North America*, (Aug.) 1943, pp. 1163-1176).

46 — Rammelkamp (C.-H.) and Keefer (C.-S.). — Observations on the use of « gramicidin » (Dubos) in the treatment of streptococcal and

staphylococcal infections. (*J. Clin. Investigation*, 20 : 433-434 (July) 1941).

47 — Francis (A.-E.). — Sulphonamide-resistant Streptococci in a plastic-surgery ward. (*Lancet*, 1 : 408-409 (Apr. 4) 1942).

48 — Rankin (L.-M.). — The use of tyrothricin in the treatment of ulcers of the skin. (*Am. J. Surg. n. s.*, 65 : 391-392 (Sept.) 1944).

49 — Kvale (W.-F.), Barker (N.-W.) and Herrell (W.-E.). — The use of tyrothricin in the treatment of ulcers of the extremities due to peripheral vascular disease. (*M. Clin. North America*, (July) 1944, pp. 849-859).

50 — Gause (G.-F.) and Brazhnikova (M.-G.). — Gramicidin S and its use in the treatment of infected wounds. (*War. Med.*, 6 : 180-181 (Sept.) 1944).

51 — Schoenbach (E.-B.), Enders (J.-F.) and Mueller (J.-H.). — The apparent effect of tyrothricin on Streptococcus hemolyticus in the rhinopharynx of carriers. (*Science n. s.*, 94 : 217-218 (Aug. 29), 1941).

52 — Williams (H.-L.). — Discussion. (*Tr. Am. Acad. Ophth.*, 47 : 440-441 (July-Aug.) 1943).

53 — Lindsay (J.-R.) and Judd (D.-K.). — Observations on the local use of sulfonamides and tyrothricin in the upper respiratory tract. (*Tr. Am. Acad. Ophth.*, 47 : 431-439 (July-Aug.) 1943).

54 — Crowe (S.-J.), Fischer (A.-M.), Ward (A.-T. Jr.) and Foley (M.-K.). — Penicillin and tyrothricin in otolaryngology based on a bacteriological and clinical study of 118 patients. (*Ann. Otol. Rhin. and Laryng.*, 52 : 541-572 (Sept.) 1943).

55 — Kolmer (J.-A.). — Chemotherapy and biotherapy; their relation to the prevention and treatment of diseases of the ear, nose and throat. (*Arch. Otolaryng.*, 40 : 17-28 (July) 1944).

56 — Heath (Parker). — Chemotherapy in ophtalmology. (*J. A. M. A.*, 124 : 152-155 (Jan. 15) 1944).

57 — Streicher (C.-J.). — Treatment of acute conjunctivitis with tyrothricin. (*Ohio State M. J.*, 43 : 951 (Oct.) 1944).

58 — Little (R.-B.), Dubos (R.-J.) and Hotchkiss (R.-D.). — Action of gramicidin on streptococci of bovine mastitis. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 44 : 444-445 (June) 1940).

60 — Little (R.-B.), Dubos (R.-J.) and Hotchkiss (R.-D.). — Effect of gramicidin suspended in mineral oil on streptococci of bovine mastitis. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 45 : 462-463 (Oct.) 1940).

61 — Little (R.-B.), Dubos (R.-J.) and Hotchkiss (R.-D.). — Gramicidin, Novoxil and acriflavine for the treatment of the chronic form of streptococcic mastitis. (*J. Am. Vet. M. A.*, 98 : 189 (Mar.) 1941).

62 — Little (R.-B.), Dubos (R.-J.), Hotchkiss (R.-D.), Bean (C.-W.) and Miller (W.-T.). — The use of gramicidin an other agents for the elimination of chronic form of bovine mastitis. (*Am. J. Vet. Research.*, 2 : 305 (July) 1941).

63 — Schalm (O.-W.). — Treatment of bovine mastitis (Abstr.) (*J. Am. Vet. M. A.*, 99 : 196 (Sept. 1941).

64 — Martin (F.-E.). — The eradication of streptococcic mastitis by treatment with tyrothricin. (*J. Am. Vet. M. A.*, 101 : 23-25 (July) 1942).

65 — Bryan (C.-A.), Weldy (M.-L.) and Greenberg (J.). — The results obtained with tyrothricin in the treatment of 157 cows with streptococcic mastitis. (*Vet. Med.*, 37 : 364 (Sept.) 1942).

66 — Stokes et Woodwards. — Isolement du sol des germes sporulants et produisant des substances bactéricides. (*J. Bacteriol.*, 1942, 43-253).

67 — Dimick. — Méthode de dosage de la Tyrothricine. (*J. of biological chem.*, 149 (Août) 1943).

68 — Johnson. — Studies on Gramicidin and related substances; bactericidal effect of tyrothricin on oral bacteria. (*J. Amer. Dent. Ass.*, 30, 190, 9 (1er dec.) 1943).

69 — Francks, Dobes et Jones. — Tyrothricin in the treatment of diseases of the skin. (*Arch. of Dermat. and syphil.*, 53, 5 (mai) 1946, 498).

70 — Anderson (H.). — Tyrothricin in cutaneous infections. (*Arch. of Dermat. and Syphil.*, 1946, 53, I, 20).

71 — Mc Kee, Sulzberger, Herrmann et Harris. — The treatment of pyoderms with an unterface active solution of tyrothricin. (*J. of investig. dermat.*, 7-4-1946, 175).

72 — Lewis. — Modifications of gramicidin through reaction with formaldehyde. (*Science*, 1945, 102, n° 2,646, 274).

73 — Belzozersky, Passhina. — (*Lancet*, 1945, ü, 716).

74 — Belzozersky, Passhina. — (*Biokimya*, 1945, 10, 345).

75 — Bulgakov, Lasarenko. — (*Rep. Chkalvo. Inst. Microbiol.*, 1945).

76 — Gause (G.-F.), Brazhnikova. — (*Lancet*, 1944, ii 715).

77 — Grach. — (*Rep. Chkalov. Inst. Microbiol.*, 1945).

78 — Krahtintseva. — (*J. Microbiol. épiderm., U. R. S. S.*, 2, 1946).

79 — Krestovnikova, Paratorina. — (*Ibid.*, 2, 1946).

80 — Levinson, Belkina. — (*Hosp. Works.*, 1945, 3, 42).

81 — Marchenko, Rachman. — (*J. Microbiol. epiderm., U. R. S. S.*, 2, 1946).

82 — Pershina (Z.). — (*Ibid.*, 2, 1946).

83 — Sergiev (P.). — (*Lancet*, 1944, ii 717).

83 — Sharkova (M.), Brazhnikova (G.-J.). — (*Microbiol. epidem., U.R.S.S.*, 1946, 2).

85 — Synge. — (*Biochm. J.*, 1945, 39, 363).

86 — Unenich, Dutova. — (*Rep. Chkalov. Inst. Microbiol.*, 1945).

87 — Turafsky (N.-J.). — (*Microbiol. epidem. U. R. S. S.*, 2, 1946).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 7

HISTORIQUE 11

PREMIERE PARTIE

LE BACILLE ET SA CULTURE 13

LE BACILLUS BREVIS 15

CULTURES DU BACILLUS BREVIS ET PRODUCTION DE TYROTHRICINE DANS LES CULTURES 21

EXTRACTION DE LA TYROTHRICINE 30

DEUXIEME PARTIE

LA TYROTHRICINE 35

ETUDE PHYSIQUE ET CHIMIQUE 35

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE « IN VITRO » 38

ACTIVITE « IN VIVO » 53

TOXICITE 58

DOSAGE 68

MODE D'ACTION DE LA TYROTHRICINE ET DE SES COMPOSANTS 79

TROISIEME PARTIE

RESULTATS OBTENUS EN CLINIQUE AVEC LA TYROTHRICINE. 83

PREPARATIONS ET MODE D'EMPLOI 85

LA TYROTHRICINE EN CHIRURGIE 87

LA TYROTHRICINE DANS LES PLEURESIES PURULENTES 106

LA TYROTHRICINE EN OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 111
TYROTHRICINE ET DIPHTERIE 127
LA TYROTHRICINE EN OPHTALMOLOGIE 132
LA TYROTHRICINE EN DERMATOLOGIE 134
LA TYROTHRICINE EN UROLOGIE 148
LA TYROTHRICINE EN GYNECOLOGIE 151
LA TYROTHRICINE EN ART VETERINAIRE 154
FACTEURS DETERMINANT L'EFFICACITE DE LA THERAPEUTIQUE PAR LA TYROTHRICINE 155

CONCLUSIONS 159

BIBLIOGRAPHIE 161

IMPRIMERIE R. FOULON
29, Rue Deparcieux, 29
P A R I S